



Universidade de Aveiro
2008

Departamento de Ambiente e Ordenamento

Norberto Carlos Oliveira
Cruz Monteiro

Pré-tratamento anaeróbio de um efluente
da indústria alimentar



**Norberto Carlos Oliveira
Cruz Monteiro**

**Pré-tratamento anaeróbio de um efluente
da indústria alimentar**

Dissertação apresentada à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Engenharia do Ambiente, realizada sob a orientação científica da Doutora Maria Isabel Aparício Paulo Fernandes Capela, Professora Associada do Departamento de Ambiente e Ordenamento da Universidade de Aveiro.

o júri

presidente

Doutora Maria Helena Gomes de Almeida Gonçalves Nadais
Professora Auxiliar do Departamento de Ambiente e Ordenamento da Universidade de Aveiro

vogais

Doutora Maria Isabel Aparício Paulo Fernandes Capela (Orientador)
Professora Associada do Departamento de Ambiente e Ordenamento da Universidade de Aveiro

Doutor Cheng Chia-Yau
Professor Auxiliar Convidado do Departamento de Engenharia Civil da Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto

agradecimentos

Agradeço à Professora Isabel Capela pela disponibilidade, orientação, sugestões e conhecimentos transmitidos durante a realização deste trabalho.

Ao Grupo de Águas, nomeadamente a Professora Isabel Capela, ao Professor Luís Arroja e a Professora Helena Nadais pelos debates e sugestões fornecidas. E aos restantes elementos do grupo, Micaela Soares, Flávio Silva, Otília Rodrigues, Marta Barbosa, Sérgio Silva e Artur Silva, agradeço pelo auxílio na parte experimental, sugestões e companheirismo ao longo da realização deste trabalho.

Aos meus amigos pelo apoio e força que me transmitiram, em especial ao Diogo Dâmaso que esteve sempre presente em todos os momentos e foi a grande fonte de boa disposição e força nos momentos mais difíceis.

Aos meus pais agradeço por tudo.

Palavras chave

Acidificação anaeróbia; digestão anaeróbia; pré-tratamento biológico; efluente da indústria alimentar; biodegradabilidade aeróbia.

resumo

O trabalho realizado teve como intuito avaliar a aplicabilidade de um processo biológico anaeróbio como pré-tratamento de um efluente gerado na prensagem de compostos insolúveis de cereais e café de uma fábrica nacional de produtos alimentares. Este efluente devido à sua reduzida biodegradabilidade provoca limitações na eficiência do processo de tratamento biológico aeróbio actualmente existente na ETARI (estação de tratamento de águas residuais industriais). Nesse sentido foram operados três reactores anaeróbios contínuos do tipo MBBR (moving bed biofilm reactor), sem controlo de pH e operados a duas gamas de temperatura: mesofílica (36°C) e termofílica (55°C). Dois dos reactores funcionaram como acidogénicos e foram submetidos a uma matriz experimental de cargas orgânicas crescentes (5 g CQOs/L.d a 20 g CQOs/L.d), operando um na gama mesofílica e outro na termofílica. Foi também operado um reactor metanogénico na gama mesofílica, sendo submetido apenas a duas cargas orgânicas (1 g CQOs/L.d e 2 g CQOs/L.d). Posteriormente foi testada a biodegradabilidade aeróbia dos efluentes obtidos em cada estado estacionário de operação dos reactores anaeróbios. Para as condições testadas verificou-se que o reactor anaeróbio acidogénico operado na gama mesofílica apresentou uma percentagem de acidificação superior ao do reactor termofílico. Para a carga orgânica de 10 g CQOs/L.d aplicada aos reactores acidogénicos verifica-se que o reactor termofílico apresenta uma percentagem de acidificação cerca de 16% inferior à do reactor mesofílico que apresenta uma percentagem de acidificação de 31%.

A influência da temperatura reflecte-se na composição dos ácidos orgânicos voláteis (AOVs) presentes no efluente acidificado. No reactor a 55°C é favorecida a presença do ácido n-butírico em detrimento do ácido propiónico presente na gama mesofílica. No reactor a 36°C verificou-se que o aumento de carga levou ao aparecimento do ácido n-valérico embora este tenha sido no entanto o ácido em menor quantidade.

O reactor metanogénico deu uma boa resposta ao aumento da carga orgânica aplicada, aumentando a percentagem de remoção de CQO_{solúvel} que atingiu 89% para a carga orgânica de 2 g CQOs/L.d para um tempo de retenção hidráulico de 0,5 dia.

Os testes de biodegradabilidade aeróbia realizados aos efluentes obtidos em estado estacionário indicam que os processos estudados tornam o efluente das borras mais facilmente biodegradável. No caso do pré-tratamento ser o processo de acidificação foi atingida uma melhoria máxima de 113% na biodegradabilidade aeróbia. Os resultados obtidos permitem concluir que os pré-tratamentos anaeróbios estudados têm potencial no sentido de possibilitarem uma melhoria da biodegradabilidade do efluente das borras, de forma a posteriormente se poder submeter este efluente ao tratamento aeróbio existente na ETARI, de modo a cumprir os parâmetros de descarga.

keywords

Anaerobic acidification; anaerobic digestion; biological pre-treatment; food industry wastewater; aerobic biodegradability

abstract

The aim of this work was to evaluate the feasibility of an anaerobic biological process as a pre-treatment for wastewater generated in the pressing of insoluble compounds, cereal and coffee for a national food-factory. This effluent due to its reduced biodegradation causes limitations in the process efficiency of the aerobic biological reactor existing in the treatment plant. Three continuous anaerobic reactors MBBR (moving bed biofilm reactor) were operated without pH control and at two temperature ranges: mesophilic (36 °C) and count (55 °C). Two of the reactors were operated as acidogenic and were subjected to an experimental matrix of growing organic loads (5 g CQOs/L.d to 20 g CQOs/L.d), one operating in a mesophilic range and another in thermophilic. A reactor in methanogenic mesophilic range was also operated at two organic loads (1 g CQOs/L.d and 2 g CQOs/L.d). Aerobic biodegradability tests were also performed for the treated effluents obtained in each steady state. For the conditions tested it was found that the anaerobic acidogenic reactor operated in the mesophilic range showed a higher degree of acidification than the thermophilic reactor. For the organic load of 10 g CQOs/L.d applied to both acidogenic reactors it was observed that the thermophilic reactor presented a lower percentage of acidification of about 16%, than the mesophilic reactor that provides a percentage of acidification of 31%.

The influence of temperature is reflected in the composition of volatile organic acids (AOVs) present in the acidified effluent. In the reactor at 55°C it is favored the presence of n-butyric acid at the expense of propionic acid present in the mesophilic range. In the reactor at 36°C it was found that the organic load increase led to the appearance of n-valeric acid although it had been the acid present in smaller quantities.

The methanogenic reactor gave a good response with the organic load increase, which resulted in an increase on the CQOs removal which reached 89% for the organic load of 2 g CQOs/L.d and a hydraulic retention time of 0.5 day.

Aerobic biodegradability tests performed on the effluents obtained in each steady state indicate that the processes studied turn the effluent to be more readily biodegradable. In the case of acidification as pre-treatment it has been achieved an improvement of 113% in the maximum aerobic biodegradability. The results showed that the pre-treatment processes studied have potential to make an improvement in the biodegradation of this type of effluent, in order to be treated in the aerobic reactor existing in the full scale treatment plant so as to meet the discharge parameters.

Índice Geral

Índice Geral	i
Índice de Figuras	iii
Índice de Tabelas	v
1. Introdução	1
1.1 Enquadramento.....	1
1.2 Perspectiva histórica	4
1.3 Bioquímica do processo de Digestão Anaeróbia.....	6
1.3.1 Hidrólise.....	8
1.3.2 Acidogénese/Fermentação.....	9
1.3.3 Acetogénese.....	10
1.3.4 Metanogénese.....	12
1.3.5 Outras transformações	13
1.4 Condições Ambientais	15
1.4.1 pH e alcalinidade.....	15
1.4.2 Temperatura.....	19
1.4.3 Potencial Redox	21
1.4.4 Toxicidade e inibição.....	21
1.5 Necessidades Nutricionais.....	25
1.6 Monitorização e controlo do processo de digestão anaeróbia	27
1.7 Aplicações tecnológicas do processo de digestão anaeróbia ao tratamento de efluentes líquidos.....	29
2. Objectivos	39
3. Caracterização do problema em estudo.....	41
4. Metodologia.....	45
4.1 Descrição do esquema laboratorial.....	45
4.2 Condições de arranque e operação dos reactores	48
4.3 Monitorização da operação dos reactores	51
4.4 Parâmetros de controlo.....	51
4.4.1 Carência Química de Oxigénio (CQO)	52

4.4.2	Composição biogás	52
4.4.3	Ácidos orgânicos voláteis (AOVs)	54
4.4.4	pH.....	56
4.4.5	Alcalinidade	56
4.4.6	Sólidos.....	56
4.5	Testes de biodegradabilidade aeróbia	57
5.	Ensaio de pré-tratamento anaeróbio	61
5.1	Resultados experimentais dos reactores acidogénicos	61
5.1.1	Análise dos resultados de evolução temporal	62
5.1.2	Análise dos resultados de estado estacionário para os reactores acidogénicos R1 e R2	70
5.2	Resultados experimentais do reactor metanogénico	76
5.2.1	Análise dos resultados de evolução	76
5.2.2	Análise dos resultados de estado estacionário para o reactor metanogénico.....	81
6.	Ensaio de biodegradabilidade aeróbia	85
7.	Conclusões e considerações gerais.....	91
	Referências Bibliográficas.....	93

Índice de Figuras

Figura 1.1 – Esquema do processo de digestão anaeróbia (adaptado de Gujer e Zehnder, 1983). Os valores expressos em %, indicam fluxo de substrato na forma de CQO ou equivalente em metano.....	7
Figura 1.2 – Esquemas simplificados de digestores com retenção de biomassa: (a) UASB; (b) Digestor anaeróbio de leito fluidizado; (c) Processo de contacto; (d) Filtro anaeróbio de fluxo ascendente.....	31
Figura 4.1 – Representação esquemática da instalação laboratorial utilizada (Soares, 2008).....	45
Figura 4.2 – Rede acoplada ao veio de agitação; sistema de amostragem de biogás(derivação T); sistema de agitação superior(motor-correia-veio).....	47
Figura 4.3 – Aspecto geral de um dos reactores e do seu sistema de medida de biogás(tubagem-borbulhador-ampola).....	47
Figura 4.4 – Enchimento Bioflow 9.....	48
Figura 4.5 – Cromatógrafo gasoso com detector de condutividade térmica (TCD).....	53
Figura 4.6 – Cromatograma obtido pela análise da composição de biogás.....	53
Figura 4.7 – Cromatógrafo utilizado na análise dos AOVs.....	55
Figura 4.8 – Cromatograma obtido na análise de AOVs de uma amostra.....	55
Figura 4.9 – Sistema respirométrico OXITOP® (1-Agitador magnético; 2-Volume líquido (efluente, nutrientes e biomassa); 3-Copo de selagem com NaOH(s); 4-Frasco de incubação (510 ml); 5-sensor de pressão).....	58
Figura 5.1 – Variação da CQO solúvel à entrada e saída do reactor R1 e da sua percentagem de remoção ao longo do tempo de operação; Variação da percentagem de remoção de CQO solúvel e da carga orgânica aplicada ao reactor R1 ao longo do tempo de operação.....	63
Figura 5.2 – Evolução do grau de acidificação ao longo do tempo de operação; Evolução dos diversos AOVs e do pH ao longo do tempo de operação (R1).....	66
Figura 5.3 – Evolução da produção de biogás (ml/dia) durante o período de operação; Evolução da composição do biogás (%) durante o período de operação (R1).....	68
Figura 5.4 – Remoção da CQO solúvel médio para as diferentes cargas aplicadas.....	72
Figura 5.5 – Grau de Acidificação médio para as diferentes cargas aplicadas.....	73

Figura 5.6 – Distribuição dos AOVs em função da carga orgânica aplicada e da temperatura.....	74
Figura 5.7 – Variação da CQO solúvel à entrada e saída do reactor ao longo do tempo de operação; Variação da percentagem de remoção da CQO solúvel e da carga orgânica aplicada ao reactor ao longo do tempo de operação.....	77
Figura 5.8 – Evolução do grau de metanização, pH e remoção de CQOs ao longo do tempo de operação; Evolução da produção e composição do biogás ao longo do tempo de operação.....	79
Figura 5.9 – Evolução dos diversos AOVs ao longo do tempo de operação (R3).....	81
Figura 5.10 – Valor médio de estado estacionário para os diversos parâmetros analisados nas duas fases experimentais.....	83
Figura 6.1 – Evolução do perfil de variação de pressão (e ajuste de pressão) no ensaio de biodegradabilidade aeróbia do efluente 3R1.....	86
Figura 6.2 – Evolução do perfil de variação de pressão nos ensaios de biodegradabilidade aeróbia do efluente das borras.....	87
Figura 6.3 – Evolução do perfil de variação de pressão dos efluentes submetidos ao ensaio de biodegradabilidade aeróbia.....	87

Índice de Tabelas

Tabela 1.1 – Requisitos para as descargas das estações de tratamento de águas residuais sujeitas ao disposto nos artigos 5º e 6º do decreto-lei 152/97 (D.R.nº139-19/6/1997, pág.2963-2964).....	2
Tabela 1.2 – Valores típicos dos parâmetros cinéticos das bactérias anaeróbias de acordo com o modelo de Monod (Lema et al., 1992).....	9
Tabela 1.3 – Termodinâmica de algumas reacções envolvidas na conversão sintrófica durante a decomposição metanogénica (Drake, 1994).....	11
Tabela 1.4 – Composição elementar média de bactérias metanogénicas (Scherer <i>et al.</i> , 1983, Takashima e Speece, 1990).....	26
Tabela 4.1 – Características do enchimentobioflow 9.....	48
Tabela 4.2 – Matriz experimental de carga orgânica aplicada (g CQOs/L.d) aos reactores acidogénicos.....	48
Tabela 4.3 – Composição da alimentação, de acordo com cada condição operatória.....	49
Tabela 4.4 – Matriz experimental de carga orgânica aplicada (g CQOs/L.d) ao reactor metanogénico.....	50
Tabela 4.5 – Composição da alimentação de acordo com as condições operacionais impostas ao reactor metanogénico.....	50
Tabela 4.6 – Plano de monitorização de cada reactor.....	51
Tabela 4.7 – Condições de operação do cromatógrafo gasoso.....	53
Tabela 4.8 – Características de operação do cromatógrafo gás-liquido.....	54
Tabela 4.9 – Condições experimentais para realização do ensaio de biodegradabilidade.....	59
Tabela 4.10 – Condições do ensaio de biodegradabilidade ao efluente das borras.....	59
Tabela 5.1 – Parâmetros operacionais aplicados aos reactores acidogénicos R1 e R2.....	62
Tabela 5.2 – Factores de conversão para AOVs (Oktem, 2006).....	65
Tabela 5.3 – Desempenho dos reactores acidogénicos R1 e R2 para cada estado estacionário.....	71

Tabela 5.4 – Parâmetros operacionais aplicados ao reactor metanogénico R3.....	76
Tabela 5.5 – Desempenho do reactor metanogénico para cada estado estacionário.....	82
Tabela 6.1 – Condições dos ensaios de biodegradabilidade aeróbia dos efluentes avaliados.....	85
Tabela 6.2 – valores da razão $[CBO]_{96 \text{ horas}}/[CQOs]_{\text{mistura}}$ para os efluentes testados.....	89

1. Introdução

1.1 Enquadramento

A actividade de todos os seres vivos implica a produção de resíduos, que quando devolvidos à natureza em quantidades que excedem a capacidade de regeneração e auto-depuração causam desequilíbrios nos variados ecossistemas.

O elevado crescimento urbano, juntamente com a agricultura intensiva, fizeram com que a produção de resíduos tenha superado a capacidade de auto-depuração do meio, e consequentemente, resultaram diversos problemas ambientais devido ao excesso de resíduos produzidos (Baeza, 1999). A maior parte dos problemas ambientais existentes são consequência de uma má gestão de resíduos industriais produzidos ao longo de mais de dois séculos (Fuente, C., 2002).

Os seres humanos, como seres racionais, têm a obrigação de preservar os recursos naturais existentes, não só para a sua sobrevivência como também para as gerações seguintes. Este conceito é a base da política do desenvolvimento sustentável: «Desenvolvimento que satisfaça as necessidades do presente sem comprometer a capacidade de as gerações futuras poderem satisfazer as suas próprias necessidades» (Comissão Mundial para o Ambiente e o Desenvolvimento, 1987).

As preocupações ambientais existentes na sociedade (e.g. Sociedade Ponto Verde), nas indústrias (e.g. NP EN ISO 14001), ou na política (e.g. Tratado de Kyoto, 2003, e a declaração do Rio de Janeiro sobre ambiente e desenvolvimento, 1992) são actualmente preocupações universais e mundiais.

As águas residuais provenientes de áreas urbanas e industriais, superam a capacidade de depuração dos meios hídricos, pelo que se tornou necessário impor limites de descarga mais restritivos, o que tem levado a investir um grande esforço na melhoria e desenvolvimento de processos de tratamento, assim como no seu controlo, de modo a optimizar os rendimentos de depuração.

Os limites máximos das concentrações dos principais contaminantes, estabelecidos pela directiva do Conselho Comunitário nº91/271/CEE (Diário da República nº139- 19/6/1997, pág.2963-2964), encontram-se apresentados na tabela seguinte.

Tabela 1.1 – Requisitos para as descargas das estações de tratamento de águas residuais sujeitas ao disposto nos artigos 5º e 6º do decreto-lei 152/97 (D.R.º139-19/6/1997, pág.2963-2964).

Parâmetro	Concentração	Percentagem mínima de redução*
CBO ₅ (mg O ₂ /ml)	25	70-90%
CQO (mg O ₂ /ml)	125	75%
SS (mg/l)	35	90%
Azoto total (mg/l)	15 (mg/l) N (10000-100000 e.p.) 10 (mg/l) N (mais de 100000 e.p.)	70-80%

*redução em relação à carga do afluente.

Os limites relativos aos compostos de azoto, juntamente com a matéria orgânica presente e os sólidos em suspensão, aumentaram a complexidade dos processos de tratamento, potenciando o aparecimento de mais problemas de operação de tratamento. Numa estação de tratamento de águas residuais, em que a depuração é feita através de processos biológicos, onde interactivam várias comunidades de microrganismos, está naturalmente sujeita a perturbações e instabilidade devido essencialmente à variabilidade da quantidade e composição dos efluentes a tratar. As variações nas condições de entrada, a par das variações próprias do sistema biológico, implicam que o controlo deste tipo de

sistemas deva ser mais elaborado, robusto e completo do que o de um processo químico ou físico-químico tradicional.

As características particulares destes sistemas são (Poch, 1995):

1. A entrada é variável em qualidade, sem possibilidade de modificação por parte do responsável da estação de tratamento de efluentes;
2. O processo de tratamento é complexo, já que envolve a acção de um elevado número de espécies microbianas;
3. A informação que se consegue obter “on line” é escassa, e corresponde a parâmetros globais (pH, temperatura, oxigénio dissolvido);
4. Os modelos propostos para descrever o sistema de tratamento são muito simplificados;
5. Existe um elevado número de informação qualitativa (aspecto, cor, odor, etc.) difícil de incorporar num sistema de controlo automático.

Face a estes aspectos, é consensual a necessidade de desenvolver ferramentas de supervisão e controlo, que permitam obter uma elevada qualidade do efluente final, minimizando os custos de operação associados.

As indústrias alimentares, devido à natureza das matérias-primas e dos processos utilizados, geram efluentes com elevada carga orgânica. Em particular, a indústria de processamento de café e seus derivados origina correntes com compostos complexos que requerem um tratamento específico adequado, no contexto da gestão de efluentes. Face a estes aspectos, o tratamento biológico de efluentes da indústria de processamento de café é frequentemente dificultado. Neste contexto, as técnicas de pré-tratamento permitem a compatibilização destes efluentes para a aplicação de um processo de tratamento biológico aeróbio, promovendo a solubilização e/ou redução dos compostos orgânicos refractários, de forma a torná-los mais facilmente biodegradáveis.

Como referido por Lettinga *et al.*, (1997), desde que se aplique a tecnologia adequada, se proceda a uma aclimatização do consórcio e se mantenham as

condições ambientais óptimas, o processo de digestão anaeróbia poderá ser, num futuro próximo, aplicado como pré-tratamento de qualquer tipo de efluente industrial ou doméstico, complexo ou não, muito concentrado em matéria orgânica ou muito diluído, numa gama alargada de temperatura.

Neste trabalho foi aplicado o processo de digestão anaeróbia ao efluente proveniente da indústria transformadora de café, através de uma acidificação (usando a fase acidogénica do processo de digestão anaeróbia, a par da restrição da actividade metanogénica) e uma digestão anaeróbia completa.

1.2 Perspectiva histórica

A digestão anaeróbia é um processo de degradação biológica, realizado por um complexo ecossistema microbiológico no qual substratos orgânicos e ocasionalmente inorgânicos são degradados na ausência de oxigénio. Durante o processo, a matéria orgânica é convertida maioritariamente em metano, dióxido de carbono e biomassa (Batstone, 1999).

Este processo é uma das tecnologias mais antigas, tendo sido durante muito tempo utilizada de forma empírica pela comunidade agrícola na produção de fertilizantes a partir de estrume de gado. Alguns registos da utilização do biogás para aquecimento de água na região da Assíria remontam para 1000 anos a.C. No entanto, só no século XVI por intermédio de Robert Boyle e Stephen Hale é que foi relatada a emissão de gases inflamáveis produzidos pela decomposição de matéria orgânica. No século XVIII, Alessandro Volta anunciou uma correlação directa entre a quantidade de matéria orgânica decomposta e a quantidade de gases produzida. Mais tarde em 1808, Sir Humphry Davy demonstrou a presença de metano nos gases emergentes da digestão anaeróbia (Lusk, 1998).

O primeiro digestor anaeróbio foi construído em Bombaim, Índia, em 1859. A partir de 1895 a tecnologia anaeróbia foi desenvolvida onde o biogás produzido

numa ETAR em Exeter, Inglaterra, foi recolhido e utilizado como combustível na iluminação pública. Também na Inglaterra, em 1904, foi instalado em Hampton um tanque de sedimentação e tratamento de lamas. Buswell e outros autores nos anos 30, conduziram trabalhos de investigação que identificaram e documentaram as bactérias anaeróbias e as condições ambientais que promovem este processo biológico (Monnet, 2003).

Historicamente os sistemas anaeróbios foram utilizados para estabilizar materiais de elevada carga orgânica, principalmente lamas produzidas nos processos biológicos de tratamento de ETAR's. Os sistemas tradicionais tinham períodos de arranque demasiado elevados, tornando-os assim economicamente desaconselháveis para o tratamento de águas residuais com baixas cargas orgânicas (Young e McCarthy, 1969). Estes problemas, associados à dificuldade de operação do processo anaeróbio pelas falhas frequentes no seu funcionamento, fizeram com que, durante os anos 50 e 60, estes sistemas fossem considerados demasiado dispendiosos (Young e Yang, 1989).

Só quando se começou a perceber a importância do dimensionamento e operação de digestores anaeróbios, a par da evolução do conhecimento da bioquímica microbiana, fisiologia e ecologia do processo, é que este sistema começou a conhecer um maior progresso. Assistiu-se a enormes avanços no desenvolvimento da tecnologia de digestão anaeróbia, nomeadamente com o dimensionamento de reactores de alta carga, em que a biomassa é retida por adesão a suportes, granulação ou recirculação (Iza et al., 1991).

Foram assim reduzidas as limitações tradicionalmente referidas para aplicação dos processos anaeróbios, nomeadamente longos tempos de arranque, longos tempos de retenção hidráulicos, sensibilidade a compostos tóxicos e instabilidade (Lettinga et al., 1980; Eckenfelder et al., 1988). A possibilidade de operação destes sistemas com elevados tempos de retenção de sólidos e com reduzidos tempos de retenção hidráulicos favorece a economia do sistema, conferindo-lhe maiores eficiências e maior estabilidade (Switzenbaum et al., 1990).

Desde o final dos anos sessenta, com o aparecimento do filtro anaeróbio de fluxo ascendente (Young e Mccarty, 1967), até à actualidade, surgiram novas

configurações de digestores, nomeadamente filtros anaeróbios de fluxo descendente (Van Den Berg e Lentz, 1979), reactores anaeróbios de leito fluidizado (Switzenbaum e Jewel, 1980), reactores de fluxo ascendente de manto de lamas (UASB) (Lettinga et al., 1980), reactores híbridos (UASB + Filtro) (Guiot e Van Den Berg, 1985, Reynolds e Collieran, 1986) e EGSB (UASB com leito expandido) (De Man et al., 1988) e ainda reactores segmentados em vários andares (Guiot et al., 1995, Van Lier et al., 1994, Grobicki e Stuckey, 1991).

1.3 Bioquímica do processo de Digestão Anaeróbia

A bioquímica e a microbiologia do processo de degradação anaeróbia são muito mais complexas do que as do processo aeróbio, devido à maior variedade de caminhos metabólicos disponíveis para a comunidade anaeróbia (Henze e Harremöes, 1983). O processo anaeróbio é um sistema complexo, onde ocorrem interacções entre as diferentes etapas, sendo por isso fundamental a existência de uma relação equilibrada e coordenada entre os diferentes grupos tróficos de bactérias presentes (Nachiyasit e Stuckey, 1995, Alves *et al.*, 1995).

Considerado inicialmente um processo em duas fases, acidogénese e metanogénese (McCarty, 1964), tem-se revelado crescente em complexidade e, actualmente, de um modo simplificado, é possível distinguir pelo menos 7 etapas distintas, assinaladas no esquema da Figura 1.1:

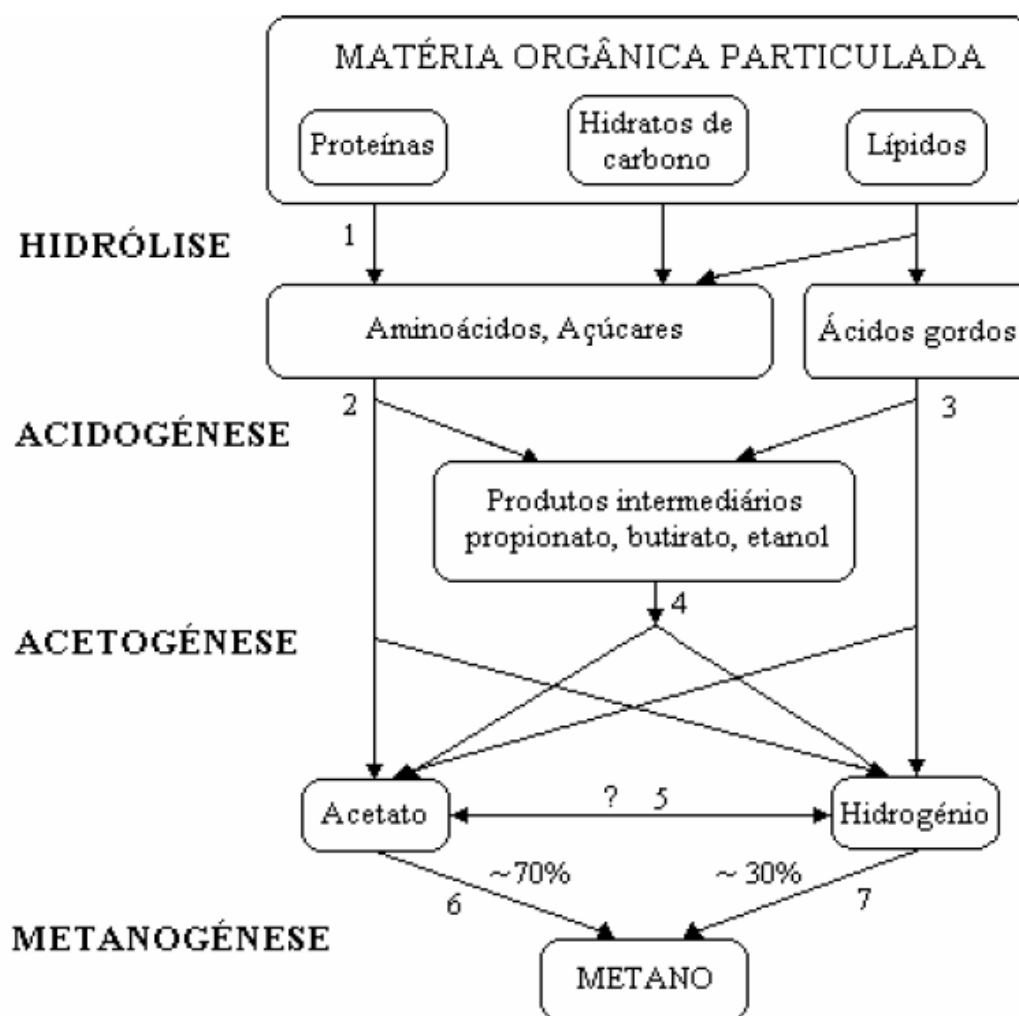


Figura 1.1 – Esquema do processo de digestão anaeróbia (adaptado de Gujer e Zehnder, 1983). Os valores expressos em %, indicam fluxo de substrato na forma de CQO ou equivalente em metano.

1. Hidrólise de biopolímeros incluindo proteínas, hidratos de carbono e lípidos que são convertidos nos seus monómeros, respectivamente aminoácidos, açúcares e ácidos gordos de cadeia longa;
2. Fermentação de aminoácidos e açúcares;
3. Oxidação anaeróbia dos ácidos gordos de cadeia longa;
4. Oxidação anaeróbia dos produtos intermediários (ácidos voláteis, com excepção do acetato) a acetato e Hidrogénio;
5. Homoacetogénese;

6. Conversão de acetato a metano pelas bactérias acetoclásticas;
7. Conversão do hidrogénio a metano pelas bactérias hidrogenotróficas.

Estas 7 etapas podem ser agrupadas em 4 sequências principais de degradação interdependentes conforme também assinaladas na Figura 1.1 (hidrólise, fermentação, acetogénese e metanogénese), e que se descrevem seguidamente.

1.3.1 Hidrólise

O primeiro passo da degradação anaeróbia consiste na hidrólise ou liquefação dos biopolímeros (proteínas, hidratos de carbono e lípidos), nos seus monómeros (aminoácidos, açúcares e ácidos gordos de cadeia longa, respectivamente), através da acção de enzimas extracelulares, uma vez que as bactérias não têm capacidade para assimilar material orgânico na forma particulada.

A velocidade da hidrólise é afectada por um grande número de factores, entre os quais a superfície específica e varia com o tipo de substrato (Eastman e Ferguson, 1981). Embora no caso de um substrato complexo e heterogéneo a cinética de hidrólise possa ser considerada de 1ª ordem, outras cinéticas podem descrever mais adequadamente a hidrólise de substratos simples e homogéneos (Gujer e Zehnder, 1983, Eastman e Ferguson, 1981, Valentin *et al.*, 1997). Trata-se de um processo lento, que pode, em caso de substratos muito complexos, ser o passo limitante de todo o processo de degradação (Parkin e Owen, 1986). A velocidade global de todo o processo de transformação da matéria biodegradável é controlada pelo processo mais lento. Se o substrato é facilmente hidrolisado, a etapa que controla o processo anaeróbio será a metanogénese. No entanto, se a matéria a tratar é rica em polímeros complexos, a hidrólise torna-se mais lenta pela baixa acessibilidade do substrato, logo, este passo controlaria a velocidade global do processo.

Na Tabela 1.2 pode-se verificar que a velocidade relativa dos diferentes processos é muito diferente, onde também se mostram os parâmetros estequiométricos e cinéticos correspondentes a um modelo tipo Monod.

Tabela 1.2 – Valores típicos dos parâmetros cinéticos das bactérias anaeróbias de acordo com o modelo de Monod (Lema et al., 1992).

	(1) μ_{\max}	(2) $Y_{x/s}$	(3) K_s	(4) r_s
	d ⁻¹	g SSV/s CQO	g CQO/L	g CQO/ g SSV.d
Bactérias Acidogénicas (APOH)	2,0	0,15	0,2	13,0
Bactérias Metanogénicas (Methanosaeta sp.)	0,16	0,05	0,037	2,0
Bactérias Metanogénicas (Methanosarcina sp.)	0,45	0,05	0,35	9,0
Biomassa Anaeróbia (valor global no digestor)	0,1-0,45	0,18	0,1-1,4	0,5-2,5

(1) velocidade específica máxima de crescimento

(2) rendimento de biomassa

(3) constante de afinidade pelo substrato

(4) velocidade de degradação do substrato

1.3.2 Acidogénese/Fermentação

Tal como indicado no esquema da Figura 1.1, os substratos utilizados no processo fermentativo, são os monómeros resultantes da hidrólise que, após serem transportados através da membrana celular para o interior da célula, são transformados numa variedade de produtos entre os quais acetato, propionato e butirato. A velocidade de produção dos ácidos é elevada quando se compara com a velocidade de produção do metano, o que significa que um aumento brusco de compostos facilmente degradáveis dá lugar a um incremento na produção de ácidos e consequentemente na sua acumulação. Paralelamente à produção de ácidos, forma-se azoto amoniacal a partir da degradação de proteínas e aminoácidos (Ruiz, 2005). Nesta fase, o hidrogénio tem um papel preponderante na distribuição dos produtos do processo, sendo necessária a manutenção de uma concentração baixa de H₂ (<1000 ppm) na fase gasosa, por forma a obter uma maior produção de acetato. Sendo este composto o principal produto de metabolismo das bactérias acidogénicas, constitui o percurso metabólico mais rentável em termos energéticos (Mosey e Fernandes, 1984).

Verifica-se que, em consequência de sobrecargas orgânicas, hidráulicas, ou de choques térmicos, a concentração de hidrogénio aumenta significativamente, sendo acompanhada pela acumulação de propionato (Lau e Fang, 1997). Supõe-se que esta acumulação resulte de uma alteração da população acidogénica dominante (Marchaim e Krause, 1993, Inanc *et al.*, 1996).

A diversidade e número das espécies bacterianas fermentativas envolvidas no processo depende largamente da composição do substrato e o comportamento da fase acidogénica afecta a fase de metanogénese (Britz *et al.*, 1994). A população fermentativa representa em geral cerca de 90% da população bacteriana total dos digestores anaeróbios (Zeikus, 1980). Estudos microbiológicos a esta população mostraram que a maioria das bactérias fermentativas são anaeróbias obrigatórias sendo algumas anaeróbias facultativas, tais como *Streptococci* e *Enterococcaceae* (Mah e Sussman, 1968). Estas últimas bactérias permitem manter o potencial redox do meio em níveis baixos, consumindo o oxigénio que eventualmente possa entrar no digestor dissolvido no efluente a tratar.

A fermentação nunca é limitante no processo global da degradação anaeróbia (Gujer e Zehnder, 1983), uma vez que as bactérias fermentativas têm tempos de duplicação curtos (Mosey, 1983).

1.3.3 Acetogénese

A acetogénese constitui uma etapa importante, cujo objectivo é produzir, a partir dos produtos da fermentação, os substratos necessários na metanogénese, nomeadamente acetato, dióxido de carbono e hidrogénio por acção das bactérias homoacetogénicas (etapa 5, Figura 1.1) e das bactérias sintróficas ou produtoras obrigatórias de hidrogénio (OHPA - *obligate hydrogen producing acetogens*).

As bactérias homoacetogénicas produzem acetato a partir de H_2/CO_2 ou de compostos orgânicos multicarbonados (ex. açúcares), pelo que a sua capacidade de utilizarem uma grande variedade de substratos pode ser um factor determinante para a sua presença em digestores anaeróbios (Zehnder e Stumm, 1988).

As transformações acetogénicas realizadas pelas bactérias sintróficas são termodinamicamente desfavoráveis em condições normais (tabela 1.3), dado exibirem valores positivos para a energia livre de Gibbs (ΔG°) verificando-se que só se tornam exergónicas se a concentração de hidrogénio for da ordem de 10^{-4} atm ou inferior. Normalmente tal é assegurado pelas bactérias metanogénicas hidrogenotróficas ou, no caso de existir sulfato no meio, pelas bactérias sulfato-redutoras através de um processo vulgarmente designado por “transferência de hidrogénio inter-espécies” (Dolfing, 1988). Este tipo de associação, em que um microrganismo produtor de um metabolito cresce apenas na presença de outro, consumidor desse mesmo metabolito, designa-se por associação sintrófica, e requer uma proximidade física dos dois tipos de bactérias envolvidas, verificando-se que a cooperação entre os dois grupos tróficos é óptima quando a distância entre eles for mínima (Schink e Thauer, 1988).

Tabela 1.3 – Termodinâmica de algumas reacções envolvidas na conversão sintrófica durante a decomposição metanogénica (Drake, 1994).

Reacções	ΔG° (kJ/mol) ^(a)
$\text{Etanol} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Acetato}^- + \text{H}^- + 2\text{H}_2$	+9,6
$\text{Butirato}^- + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow 2\text{Acetato}^- + \text{H}^- + 2\text{H}_2$	+48,1
$\text{Propionato}^- + 3\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Acetato}^- + \text{HCO}_3^- + \text{H}^+ + 3\text{H}_2$	+76,1
$\text{HCO}_3 + 4\text{H}_2 + \text{H}^+ \rightarrow \text{CH}_4 + 3\text{HO}$	-135,6

(a) 298°K, pH 7, 1M para solutos e 1 atm para gases.

De acordo com os dados apresentados nesta tabela, a acetogénese a partir do propionato é a conversão menos favorável. Stams e Plugge (1994) consideram que a digestão do propionato ocorre principalmente pela via da metil-malonil-CoA, invertendo-a para a via do butirato e daqui para acetil-CoA e acetato. No entanto podem também ocorrer em ambiente metanogénico outras reacções da degradação do propionato via butirato (Tholozan et al., 1988; Lens et al., 1996). Syntrophobacter sp., assim como S. wolinii (Boone e Bryant, 1980), S. pfennigii (Wallrabenstein et al., 1995) e S. fumaroxidans (Harmsen et al., 1998) são as

bactérias oxidantes do propionato mais reportadas. O acetato pode também ser sintetizado pelas bactérias redutoras do dióxido de carbono e pelas bactérias homoacetogénicas. Contudo, em ambientes cujas concentrações de hidrogénio são baixas, tal como nos biorreactores, as bactérias hidrogenofílicas que possuem uma elevada afinidade para o hidrogénio, competem com as bactérias homoacéticas (Katinka, 1994). Também do ponto de vista termodinâmico, a metanogénese H_2/CO_2 (-135.6 kJ/mol) é um processo mais energético do que a acetogénese H_2/CO_2 (-95 kJ/mol) e, consequentemente as actividades das bactérias metanogénicas podem ser tão elevadas que as homoacetogénicas não são essencialmente detectadas (Dolfing, 1988). Isto é evidente nos trabalhos de Mackie e Bryant (1981), que verificaram que em condições mesófilas, as bactérias metanogénicas competem com sucesso pelo H_2 com as acetogénicas, dado que a produção de acetato a partir de H_2/CO_2 representa menos de 2% da produção de acetato total durante a degradação anaeróbia.

1.3.4 Metanogénese

A metanogénese é a etapa final do processo, responsável directa pela produção de metano e constitui, em muitos casos, o passo limitante do processo (Lawrence, 1971). As bactérias metanogénicas dependem do substrato fornecido pelas bactérias acidogénicas, revelando uma interacção entre o papel das várias bactérias que é fundamental ao processo (Chernicharo, 1997a).

As bactérias metanogénicas pertencem ao reino das *Arqueobactérias*, sendo agrupadas actualmente em três ordens, 7 famílias e 21 géneros. Foram identificadas mais de 65 espécies (Woese *et al.*, 1990). Estas bactérias são anaeróbias estritas, requerendo para o seu desenvolvimento um potencial redox entre -250 e -300 mv. Possuem coenzimas e cofactores específicos (coenzima F420, F430, coenzima M, Metanopterina e Metanofurano (Wolfe, 1992)) e degradam apenas um número limitado de substratos com baixo número de carbonos: acetato, metanol, metilaminas, formato, e hidrogénio + dióxido de carbono.

Há duas formas de se processar a metanogénese: ou pela fermentação do ácido acético, ou pela redução do dióxido de carbono através do hidrogénio, denominando-se respectivamente metanogénese acetoclástica ou metanogénese redutora (Gerardi, 2003; van Haandel e Lettinga, 1994). As equações 1.1 a 1.4 traduzem algumas das transformações que ocorrem nesta etapa:



Como se pode observar no esquema da figura 1.1 a conversão de acetato é responsável pela produção de cerca de 70 % do metano no processo de degradação anaeróbia (Jeris e McCarty, 1965). Por outro lado, as bactérias metanogénicas acetoclásticas representam o elo mais fraco de toda a cadeia de degradação, no que respeita à sua resistência a condições adversas, tais como choques orgânicos e hidráulicos e presença de substâncias tóxicas (Colleran, 1996). Até à data apenas foram identificados dois géneros de bactérias metanogénicas acetoclásticas: *Methanosaeta* (ex. *Methanothrix*) e *Methanosarcina*.

As bactérias metanogénicas hidrogenotróficas consomem hidrogénio, mantendo a sua concentração em níveis baixos, o que possibilita a actuação das bactérias acetogénicas, e ajudam a controlar o potencial redox do meio.

1.3.5 Outras transformações

β -oxidação dos LCFA

Dada a incapacidade por parte das bactérias acidogénicas de degradar ácidos gordos de cadeia longa (LCFA) (Dawsen e Kemp, 1970, Rinzema, 1988), estes são degradados a acetato e H_2 via β -oxidação, levada a cabo por bactérias

sintróficas. A primeira associação sintrófica capaz de degradar LCFA com mais de dez átomos de carbono foi conseguida por Roy *et al.* (1985), sendo constituída por bactérias Gram-negativas, morfológicamente idênticas à *Syntrophomonas wolfei* e *Mathanospirillum hungatei*, consumidora de H₂ produzido pelas primeiras. Posteriormente Angelidaki e Ahring (1995), caracterizaram uma cultura anaeróbia termófila, constituída por *Methanobacterium thermoautrophicum* e *Methanosarcina thermophila*, capaz de degradar LCFA.

Homoacetogénese

A primeira referência ao metabolismo homoacetogénico reporta-se a Fontaine (1942), que observou a formação de acetato (principal produto deste metabolismo) a partir de glucose e pela redução do dióxido de carbono, podendo também haver produção de outros ácidos voláteis em menor quantidade (Goldberg e Cooney, 1981).

De acordo com Zeikus, (1980), as bactérias homoacetogénicas ajudam a manter uma baixa pressão parcial de hidrogénio nos digestores anaeróbios. Estas bactérias consomem hidrogénio tal como as metanogénicas hidrogenotróficas, sendo a competição entre estes dois grupos de bactérias hipoteticamente possível. Tendo em conta que as hidrogenotróficas possuem uma maior afinidade para o hidrogénio do que as homoacetogénicas, essa competição não é considerada importante para os baixos valores de hidrogénio que normalmente existem nos digestores anaeróbios (Katinka, 1994). A capacidade das bactérias homoacetogénicas utilizarem uma grande variedade de substratos pode ser um factor determinante da sua presença em digestores anaeróbios e em outros ecossistemas anaeróbios (Zehnder e Stumm, 1988).

Síntese de ácidos orgânicos

Em determinadas condições, na presença de excesso de etanol e de hidrogénio, pode ocorrer a reversão de algumas reacções acetogénicas com produção de ácidos de cadeia mais longa a partir de compostos com dois átomos de carbono.

Este processo pode ser conduzido por um número limitado de bactérias capazes de utilizar o dióxido de carbono como aceitador de electrões (Barker, 1937, Laanbroek *et al.*, 1982). A formação de butirato a partir de acetato ou de etanol por *Clostridium kluyveri* é um exemplo (Barker, 1937). Foi isolada uma bactéria que converte acetato e etanol em propionato (Laanbroek *et al.*, 1982).

1.4 Condições Ambientais

A digestão anaeróbia exige um controle rigoroso das condições ambientais, uma vez que o processo requer uma interacção das bactérias fermentativas e metanogénicas. Dessa forma, o sucesso do processo depende de um equilíbrio delicado do sistema ecológico. Atenção especial deve ser dispensada às bactérias metanogénicas, consideradas as mais vulneráveis às mudanças das condições ambientais (Chernicharo, 1997b).

Dos vários factores ambientais que influenciam o processo de degradação anaeróbia, enumeram-se, de seguida aqueles cuja importância se considera primordial na obtenção de um bom funcionamento global do sistema.

1.4.1 pH e alcalinidade

Os microrganismos são altamente sensíveis a variações de pH, embora nem todos os grupos tróficos apresentem o mesmo grau de sensibilidade relativamente a este parâmetro (Lema *et al.*, 1992).

Uma vez que o processo de digestão anaeróbia é uma sequência de degradações levadas a cabo por grupos distintos de bactérias, é importante saber qual o pH que maximiza a eficiência global do processo. Os diferentes grupos bacterianos apresentam actividade máxima para valores de pH não muito diferentes (Lema e Mendez, 1988). As bactérias produtoras de metano têm um crescimento óptimo na faixa de pH entre os 6,6 e os 7,4. As bactérias produtoras de ácidos têm um crescimento óptimo na faixa de pH entre os 5,0 e os 6,0, mas podem mostrar-se activas mesmo para valores de pH da ordem dos 4,5. Na prática, isso significa

que a produção de ácidos num reator pode continuar livremente apesar da produção de metano ter sido interrompida devido aos baixos valores de pH (Edeline, 1979; Zoetemeyer *et al.*, 1982; Ramalho, 1983; Metcalf e Eddy, 1991; Van Haandel e Lettinga, 1994; Chernicharo, 1997b; Foresti, 1997).

Segundo, Winkler (1981), se o pH desce para níveis inferiores a 6,2 a produção de metano reduz-se drasticamente e o processo pode ser interrompido.

Attal *et al.* (1986) verificaram a existência de actividade metanogénica para valores baixos de pH (até 4,3) o que parece contrariar o facto de estas bactérias serem altamente sensíveis a variações de pH. Estes autores atribuíram este facto à possível existência de micro ambientes, nos quais o pH seria superior ao medido no meio.

O pH afecta:

- a taxa de crescimento dos microrganismos, pelo que variações deste parâmetro podem causar alterações importantes na constituição microbiana dos consórcios;
- o metabolismo, nomeadamente a utilização das fontes de carbono e energia, as reacções de síntese e a produção de metabolitos extracelulares (Sakharova e Rabotnova, 1976);
- a morfologia e a estrutura, com consequências para os fenómenos de adesão e floculação (Forage *et al.*, 1985).

A toxicidade do ião amónio (NH_4^+) é influenciada pelo pH do meio. Para valores elevados de pH forma-se preferencialmente a forma não ionizada (NH_3) que penetra na membrana celular (McCarty, 1964). Também os ácidos voláteis e o H_2S exercem uma toxicidade influenciada pelo pH do meio traduzindo-se pelo deslocamento dos equilíbrios ácido-base destes compostos, no sentido das formas não ionizadas, para baixos valores de pH (Särner, 1986, Andrews e Graef, 1971). As formas não ionizadas penetram na célula, dissociam-se e provocam o aumento da concentração intracelular de hidrogénio. A extrusão do excesso de prótons consome ATP, diminuindo a sua disponibilidade para o crescimento e metabolismo (Fukuzaki *et al.*, 1990).

Van Haandel e Lettinga (1994), Foresti (1997) e Hirata (1997) afirmam que a espécie alcalina mais importante num sistema de digestão anaeróbia é o ião bicarbonato (HCO_3^-), cuja origem resulta da libertação de espécies alcalinas a partir do metabolismo de proteínas, principalmente o amoníaco ($\text{NH}_3/\text{NH}_4\text{OH}$) (amonificação) e de formas oxidadas de enxofre, de sulfito (S_2^-/HS^-) e pela hidrólise de sais de ácidos orgânicos fracos.

A alcalinidade destas substâncias é transferida para o bicarbonato através da reacção sucessiva com o composto ácido mais abundante no meio, o CO_2 .



As equações químicas 1.5 e 1.6 mostram como o meio se torna alcalino, via bicarbonato. Este mecanismo é de extrema importância para o entendimento do mecanismo de controlo do pH de um biodigestor (Hirata, 1997).

De acordo com Van Haandel e Lettinga (1994), o sistema $\text{CO}_2/\text{HCO}_3^-/\text{CO}_3^-$ além de garantir um pH adequado e estável, influencia a composição do biogás gerado e o equilíbrio sólido/líquido no que se refere à precipitação ou dissolução do CaCO_3 e aos fenómenos de corrosão dos tanques que permitem a biodigestão.

Da mesma forma, podemos afirmar que a acidez de um sistema é a capacidade que ele tem de neutralizar bases. A acidez elevada não significa pH baixo, mas elevada resistência ao aumento de pH quando uma base é introduzida no sistema. A ocorrência simultânea de substâncias ácidas e alcalinas confere ao sistema um efeito tampão ácido/base, que é a capacidade de manter o seu pH, mesmo quando ácidos ou bases são adicionados.

Hirata (1997) afirma que a descida de pH é preocupante na digestão anaeróbia, e portanto, acentua a importância da existência de um tampão alcalino neste processo.

Os ácidos orgânicos voláteis (AOV) também são importantes para o acompanhamento e controle da digestão anaeróbia. A alcalinidade da solução denota o nível da capacidade tampão dessa solução, sendo por isso importante para a evitar que haja descidas de pH através da acumulação de ácidos voláteis.

A relação AOV/alcalinidade é um dos parâmetros mais adequados para evitar descidas de pH e falhas do processo. Os valores recomendados desse rácio situam-se entre os 0,1 e 0,35 mol/mol (Chernicharo e Aroeira, 1994; Hirata, 1997).

Beal (1995) diz que para que um processo de digestão seja adequado, a concentração de ácidos voláteis no efluente, expressa como ácido acético, não deve ser superior a 200 mg/L.

O estabelecimento de um equilíbrio ecológico entre os tipos e espécies de microrganismos anaeróbios é de fundamental importância para a eficiência do sistema de tratamento de resíduos. Para a avaliação desse equilíbrio ecológico contabilizam-se os ácidos gordos de cadeia longa, que são formados como produtos intermediários da degradação dos hidratos de carbono, proteínas e lípidos. Quando uma população de bactérias metanogénicas se encontra presente em quantidade suficiente, e as condições ambientais no interior do sistema de tratamento são favoráveis, estas utilizam os ácidos intermediários tão rapidamente quanto estes são formados. Como resultado, os ácidos não se acumulam para além da capacidade neutralizadora das substâncias alcalinas presentes no meio, e o pH permanece numa faixa favorável ao desenvolvimento de bactérias metanogénicas e o sistema anaeróbio é considerado em equilíbrio (Beal, 1995; Chernicharo, 1997b). Caso contrário, se as substâncias alcalinas forem consumidas rapidamente e os ácidos livres não forem neutralizados, ocorre uma descida de pH. Esta situação é denominada de “reactor ácido” e produz variações na concentração de ácidos voláteis e na alcalinidade da solução, originando a inibição do processo de digestão (Edeline, 1979; Sousa, 1996; Chernicharo, 1997b; Bonifácio *et al.*, 1998).

A concentração de ácidos voláteis traduz-se numa informação directa da actividade das bactérias acidogénicas e metanogénicas. No entanto, este parâmetro de controlo só indica se o problema aconteceu ou não (Beal, 1995).

Para a maioria dos casos práticos, uma alcalinidade entre 2500 e 5000 mg CaCO_3/L é suficiente para se obter um adequado poder tampão no sistema (Grady e Lim, 1980).

1.4.2 Temperatura

A temperatura afecta significativamente a actividade dos microrganismos e, em menor grau, as constantes de equilíbrio físico-químico do meio, revelando-se um dos factores que mais influencia a eficiência do processo de digestão anaeróbia (Soto *et al.*, 1992).

Van Lier *et al.* (1997) referem, no entanto, que a temperatura não é um factor limitante na aplicação destes sistemas de tratamento, desde que se escolha a configuração mais adequada a cada caso. No que diz respeito à actividade microbiana são normalmente consideradas três gamas de temperatura: psicrófila (< 20 °C), mesófila (20-45 °C) e termófila (> 45 °C) (Coates, 1991). Na realidade, a diferenciação entre estas gamas, no interior dos reactores, poderá não ser tão clara, devido à existência de bactérias termotolerantes, que exibem actividade em zonas intermédias de temperatura (Lema *et al.*, 1992). A escolha do óptimo de temperatura depende de factores económicos e operacionais, sendo, no entanto, a maior parte dos processos, operados a temperaturas mesófilas (Carrondo, 1980).

Quando se opera na gama psicrófila a digestão de substratos complexos é limitada pela hidrólise, sendo necessário que a fase de arranque seja realizada a uma temperatura mesófila (Sakinnoja-Salonen *et al.* 1983). Viraraghavan e Kikkeri, (1990) verificaram que, mantendo todas as outras condições constantes, quanto mais baixa for a temperatura, maior é a sensibilidade a variações no tempo de retenção hidráulico e menor é a eficiência de remoção para um dado tempo de retenção.

Nozevnichova *et al.* (1997) observaram a produção de metano em sedimentos de lagos profundos, a temperaturas entre 2 e 70°C, tendo obtido uma cultura que apresentava um máximo de actividade metanogénica a temperaturas entre 4 e 8°C, demonstrando, pela primeira vez, a existência de uma comunidade específica psicrófila. Constataram também que a adição de celulose, ácidos voláteis, metanol e H₂/CO₂ estimulava a produção de metano a todas as temperaturas. Metanol e H₂/CO₂ eram directamente convertidos a metano em condições termofílicas, mas, em condições psicrófilicas, estes substratos eram

convertidos a metano em dois passos, formando-se inicialmente acetato que era posteriormente convertido a metano.

As bactérias metanogénicas apresentam um crescimento máximo na gama mesófila, para temperaturas entre os 30 e 38°C e na gama termófila entre 49 e 57°C. A operação a temperaturas termófilas possibilita a obtenção de maiores taxas de remoção, uma vez que estas estirpes bacterianas possuem taxas de crescimento superiores às mesófilas. Desta forma, torna-se possível a aplicação de cargas orgânicas mais elevadas e a operação com tempos de retenção hidráulicos (TRH) inferiores (Zinder, 1988, Ugurlu e Forster, 1992, Van Lier *et al.*, 1993, Lau e Fang, 1997). No entanto, Henze e Harremões (1983) referem que a temperaturas elevadas, a lise celular ocorre rapidamente, e para além do tempo necessário para o arranque dos processos ser, em geral, elevado, há também uma maior sensibilidade a variações na carga orgânica ou à presença de tóxicos, tornando o processo instável (Parkin e Owen, 1986).

Inclusivamente, as concentrações de agentes tóxicos inibitórias da metanogénese termófila são significativamente inferiores às que inibem os sistemas mesófilos (Ugurlu e Forster, 1992). Hwu (1997) observou que em condições termófilas o oleato de sódio apresentava uma taxa de degradação superior à observada em condições mesófilas, mas o índice de toxicidade relativamente à actividade acetoclástica (IC₅₀) era substancialmente menor a temperaturas elevadas (0.35-0.79 mM a 55°C e 2.35-4.30 mM a 30°C), tornando difícil a escolha entre os dois processos.

Van Lier *et al.* (1994) referiram a importância do tratamento anaeróbio termófilo, especialmente para efluentes produzidos a altas temperaturas, como por exemplo os de destilarias e de produção de papel e pasta para papel. Por outro lado, se for possível operar os digestores à temperatura ambiente (ex.: 10-25°C) os custos de energia associados aos sistemas de aquecimento podem ser eliminados (Nachaiyasit e Stuckey, 1995, Lau e Fang, 1997).

1.4.3 Potencial Redox

Manter um ambiente de anaerobiose estrita é fundamental para o bom funcionamento da biomassa metanogénica, cuja actividade é limitante do bom desempenho de digestores anaeróbios. Desta forma é necessário manter o potencial redox do meio em valores inferiores a -200mV, sendo que o potencial redox normal para uma boa digestão anaeróbia ronda os -260mV, a pH 7.

1.4.4 Toxicidade e inibição

Tal como todos os processos biológicos, o processo da digestão anaeróbia efectuado por um consórcio microbiano complexo pode ser perturbado pela presença de substâncias tóxicas. As bactérias metanogénicas são particularmente susceptíveis a uma larga gama de componentes, sendo geralmente as acetoclásticas as mais sensíveis à toxicidade, embora alguns compostos possam ter um maior efeito inibitório sobre os microrganismos acidogénicos (Speece, 1996).

Dependendo dos efeitos que provocam, os compostos inibitórios podem ser classificados da seguinte forma (Alvarez *et al.*, 1988, Soto *et al.*, 1992):

- inibidores metabólicos → causam uma inibição reversível, recuperando-se a actividade original após o seu desaparecimento do meio;
- inibidores fisiológicos → os seus efeitos mantêm-se durante algum tempo após o desaparecimento da substância do meio, uma vez que afectam os constituintes sub-celulares das bactérias;
- agentes bactericidas → conduzem à morte da flora bacteriana.

Uma vez que estas substâncias afectam principalmente as etapas acetogénica e metanogénica do processo de digestão anaeróbia, as suas consequências imediatas poderão ser muito similares às resultantes de choques orgânicos, térmicos ou hidráulicos, provocando uma diminuição da produção de metano e

posterior acidificação do reator (Soto *et al.*, 1992). Segundo Lettinga (1995), a situação é bem menos dramática do que era suposto no passado, e tem-se tornado claro que muitos dos compostos tradicionalmente referidos como inibidores, podem ser efectivamente biodegradados por um consórcio anaeróbio adaptado. Por outro lado, a biomassa estruturada em grânulos apresenta uma resposta à toxicidade diferente da biomassa dispersa. Por exemplo, relativamente à toxicidade do oleato de sódio, cuja acção se exerce ao nível da parede celular, verificou-se que o índice de toxicidade aumentava com a diminuição da área específica da biomassa, o que significa uma maior resistência da biomassa granular do que da biomassa dispersa (Hwu, 1997). No entanto, os resultados obtidos por Kato (1994) indicam que na prática não foi observado efeito adverso do oxigénio sobre a eficiência do sistema de tratamento. A protecção conseguida pelas bactérias metanogénicas no interior dos grânulos e a que lhes é conferida pelas bactérias facultativas que têm tempos de duplicação curtos e que consomem o oxigénio dissolvido que entra nos reactores, permite, segundo este autor o tratamento anaeróbio de efluentes diluídos.

A tolerância das bactérias metanogénicas ao oxigénio varia de espécie para espécie, ou mesmo de estirpe para estirpe, de acordo com as condições ambientais. A presença de oxigénio pode inibir as bactérias metanogénicas e provocar o crescimento de organismos aeróbios ou facultativos na superfície dos agregados granulares, deteriorando as suas características de sedimentação. Por outro lado, os resultados obtidos por Kato (1994) indicam que na prática não foi observado qualquer efeito adverso do oxigénio sobre a eficiência do sistema de tratamento, uma vez que as bactérias metanogénicas beneficiam do facto de se encontrarem protegidas no interior de grânulos e devido à presença de bactérias facultativas que têm tempos de duplicação curtos e consomem o oxigénio dissolvido.

Os ácidos voláteis (acético, propiónico e butírico), além de serem utilizados como substrato pelas bactérias, podem também funcionar como inibidores, uma vez que para valores baixos de pH se formam preferencialmente as suas formas não ionizadas, as quais podem penetrar na membrana celular (Gonçalves, 1988). Os efeitos da acumulação dos ácidos voláteis manifestam-se principalmente ao nível

da população metanogénica (Pohland, 1992), sendo o ácido propiónico o mais tóxico para este grupo de bactérias. Em reactores operando normalmente, a concentração total de ácidos voláteis, expressa em termos de ácido acético, não deve ultrapassar os 2000 a 3000 mg/L, sendo desejável que se mantenha em valores inferiores aos 500 mg/L (Barford, 1988).

Os ácidos gordos de cadeia longa (AGCL), formados por hidrólise dos lípidos, são inibitórios da metanogénese, embora possam precipitar em solução sob a forma de sais de cálcio. McCarty (1964) referiu que o ácido oleico provocava inibição da metanogénese em concentrações da ordem dos 500 mg/L; na presença de cálcio são toleradas concentrações da ordem dos 2000 a 3000 mg/L.

As espécies NH_3 e NH_4^+ formam-se durante o processo de tratamento anaeróbio, por biodegradação de compostos orgânicos nitrogenados. Para valores elevados de pH forma-se preferencialmente a forma não ionizada (NH_3), a qual pode exercer um efeito tóxico ou inibitório. McCarty (1964) aponta 1500 a 3000 mg de amónia total ($\text{NH}_3 + \text{NH}_4^+$)/L como concentrações moderadamente inibitórias, verificando-se efeitos tóxicos para concentrações superiores a 3000 mg/L.

Na presença de sulfatos e baixos valores de pH verifica-se a formação de sulfureto de hidrogénio, o qual pode penetrar na membrana celular e provocar a inibição das bactérias metanogénicas. McCarty (1964) refere a existência de efeitos tóxicos para concentrações de sulfureto superiores a 200 mg/L, embora Rinzema (1988) tenha observado um possível efeito de protecção fornecido pela estrutura granular da biomassa.

Alguns metais em elevadas concentrações podem ter um efeito adverso no processo de degradação anaeróbia. Lin (1992) estudou o efeito de vários metais (Cd, Cu, Cr, Zn, Pb, Ni) na actividade acetoclástica e sintrófica (em propionato e butirato) e concluiu que o Cádmio e o Cobre eram os metais mais tóxicos e que o Níquel e o Chumbo eram os menos tóxicos. A toxicidade destes metais pode resultar da interferência com certos grupos funcionais enzimáticos ou com precursores metabólicos (Pohland, 1992). As bactérias acetogénicas, consumidoras de propionato revelaram-se mais sensíveis ao Crómio e ao Zinco do que as acetoclásticas. Também Hickey *et al.*, (1989) referem que a inibição por

metais pode afectar a produção de metano, sem implicar uma inibição directa da metanogénese, mas sim de outros grupos tróficos presentes no consórcio. De acordo com Jackson-Moss e Duncan (1989), o alumínio pode ser tolerado até concentrações de 2500 mg/L, embora concentrações superiores tenham efeito inibitório no processo. Oleskiewicz e Sharma (1990) fizeram uma revisão sobre as concentrações estimulatórias e inibitórias dos metais pesados nos processos de tratamento anaeróbio de efluentes.

Os catiões de sódio, potássio, cálcio e magnésio têm um efeito estimulante a baixa concentração, podendo ser inibidores a concentração elevada. Segundo McCarty (1964) as concentrações estimulatórias situam-se na gama dos 75 a 4000 mg/L, ocorrendo inibição moderada para concentrações de 1000 a 5000 mg/L e uma inibição forte para concentrações de 3000 a 12000 mg/L, dependendo do catião. Misturas destes catiões podem exercer efeitos mais complexos, uma vez que alguns actuam antagonicamente e outros sinergisticamente.

A descoberta de inibidores metabólicos específicos é uma ferramenta particularmente útil em estudos bioquímicos e ecológicos (Oremland, 1988). São conhecidas algumas substâncias que bloqueiam a formação de metano, quer devido ao facto de serem tóxicas para as bactérias metanogénicas, quer através da alteração dos padrões de fluxo dos electrões, podendo ser também, em maior ou menor grau, inibidoras das outras bactérias anaeróbias. O uso do ácido 2-bromoetanosulfónico (Bes) como inibidor específico das bactérias metanogénicas tem ganho popularidade. Este composto é um análogo estrutural da coenzima M, que se encontra exclusivamente nas bactérias metanogénicas (Balch e Wolfe, 1979), pelo que pode ser usado para inibir apenas a componente metanogénica de uma população bacteriana mista.

Os processos anaeróbios de conversão microbiana podem ser negativamente afectados por um vasto conjunto de compostos antropogénicos e recalcitrantes, embora alguns destes sejam susceptíveis de sofrerem bioconversão, se forem garantidas condições adequadas de aclimatização da biomassa e uma correcta selecção do processo a aplicar (Rinzema, 1988, Pohland, 1992). Estas

substâncias podem ser inibidoras da metanogénese, mesmo a concentrações muito baixas, podendo esta frequentemente decorrer após adaptação das culturas.

O efeito inibitório de certos compostos pode diminuir ou mesmo desaparecer após adaptação da biomassa, podendo esta ser real ou resultar indirectamente da degradação ou modificação biológica da substância inibitória por alguns dos organismos presentes (Alvarez *et al.*, 1988).

1.5 Necessidades Nutricionais

No processo de degradação anaeróbia é essencial a satisfação dos requisitos nutricionais dos grupos bacterianos presentes. A limitação de nutrientes origina um crescimento deficiente, embora mesmo nessas condições, pode ocorrer uma redução significativa da carga poluente, o que pode ser interessante na perspectiva da redução da produção de biomassa (Lettinga, 1995).

Os processos anaeróbios caracterizam-se por uma baixa produção celular, pelo que as necessidades em nutrientes são, consequentemente, reduzidas (Lema *et al.*, 1992).

Sendo a metanogénese normalmente a etapa limitante do processo de degradação anaeróbia torna-se essencial satisfazer os requisitos nutricionais deste grupo trófico, de modo a assegurar a eficiência e a estabilidade operacionais (Carrondo, 1987). Em geral, a maior parte dos efluentes industriais contém quantidades suficientes dos nutrientes essenciais ao crescimento microbiano, considerando-se apenas necessária a adição de azoto, em quantidade determinada de acordo com a síntese celular (Speece e MacCarty, 1964).

Henze e Harremões (1983) referem razões CQO/N de 400/7 para sistemas a operar com cargas orgânicas mássicas elevadas (de 0.8 a 1.2 kgCQO/kg

VSS.dia) e razões CQO/N bastante mais elevadas, da ordem de 1000/7, para sistemas a operar com cargas orgânicas inferiores a 0.5 kgCQO/kg VSS.dia.

Em estudos efectuados sobre a razão C/N/P no tratamento anaeróbio de um efluente de uma indústria de lacticínios, concluiu-se que a deficiência em azoto provocava a diminuição das actividades hidrolítica e acetoclástica em cerca de 50 a 60%, mas que a deficiência em fósforo só diminuía essas actividades em 10 a 20%. Além do azoto e fósforo há outros nutrientes essenciais ao processo anaeróbio, nomeadamente alguns metais, co-factores essenciais a determinadas enzimas. Scherer *et al.* (1983) determinaram a composição elementar de dez espécies de bactérias metanogénicas nos seguintes elementos: C, H, N, Na, K, S, P, Ca, Mg, Fe, Ni, Co, Mo, Zn, Cu e Mn. Na Tabela 1.4 estão representados os valores médios obtidos para 10 espécies de bactérias metanogénicas (Scherer *et al.*, 1983, Takashima e Speece, 1990).

Tabela 1.4 – Composição elementar média de bactérias metanogénicas (Scherer *et al.*, 1983, Takashima e Speece, 1990).

Elemento	µg/g (peso seco)
C	370000-440000
H	55000-65000
N	95000-128000
P	5000-28000
S	5600-12000
Na	3000-40000
K	1300-50000
Ca	1000-4500
Mg	900-5300
Fe	700-2800
Ni	65-180
Co	10-120
Zn	50-630
Mo	10-70
Cu	<10-160
Mn	5-25

Com base nos valores desta tabela e sabendo as características médias de crescimento de uma dada população é possível estimar as necessidades nutricionais destas bactérias (Lettinga, 1995). Takashima e Speece (1989)

verificaram o papel essencial do Fe, Ni e Co na obtenção de uma elevada conversão de acetato em metano. Em 1983, Speece e Parkin observaram uma redução dos níveis de ácidos voláteis na corrente de saída de um digestor de 4000 mg/L para 400 mg/L, 10 dias após a adição de 50 mg/L de FeCl_3 . Lettinga *et al.* (1980) recomendam níveis de Ca de 80 a 200 mg/L para um eficiente processo de granulação, embora não relacionados com necessidades nutricionais.

Dado que os rendimentos bacterianos são bastante baixos no processo de digestão anaeróbia, a necessidade de nutrientes também é relativamente baixa. Uma fórmula adoptada frequentemente para a composição bacteriana é $\text{C}_5\text{H}_9\text{O}_3\text{N}$ a partir da qual se pode assumir uma relação CQO/N de 11,4 e estando o fósforo geralmente relacionado com o azoto entre 1:5 e 1:7. Considerando o rendimento bacteriano ($Y_{x/s}$) como o apresentado na Tabela 1.3, deduz-se uma proporção mínima de 79,8/7/1 para a razão CQO/N/P (Lema *et al.*, 1992). Na literatura podem encontrar-se outras razões, como as propostas por Henze e Harremões (1983) de 350/7/1 e 400/7/1.

1.6 Monitorização e controlo do processo de digestão anaeróbia

O bom funcionamento das estações de tratamento biológico só pode ser alcançado se o operador conhecer a dinâmica dos processos e encontrar as melhores decisões para solucionar eventuais desvios à normalidade.

Os digestores anaeróbios podem revelar-se bastante sensíveis a variações de caudal, da carga orgânica aplicada e da temperatura, bem como à presença de substâncias tóxicas, devido à reduzida velocidade de crescimento das bactérias metanogénicas. Quando perturbados, estes sistemas recuperam lentamente, pelo que será importante evitar situações de instabilidade (Hickey e Switzenbaum, 1988).

A monitorização e controlo dos processos de tratamento anaeróbios visam a manutenção de condições de operação óptimas e estáveis, procurando assegurar

um melhor desempenho destes sistemas. Não existe um só parâmetro cuja monitorização permita indicar sistematicamente o mau funcionamento do sistema, sendo antes um conjunto de parâmetros que interagem, onde os melhores indicadores são aqueles que melhor reflectem o estado actual de um sistema anaeróbio, e que são facilmente medidos, de preferência *on-line* (Boe, 2006). Parâmetros como a carência química de oxigénio (CQO), os sólidos suspensos voláteis (SSV) e a produção de metano são utilizados habitualmente para avaliar o desempenho dos digestores anaeróbios. Também o pH é um parâmetro relevante para ser medido directamente e relacionado com a concentração de ácidos voláteis e com a alcalinidade (Boe, 2006). A concentração de H_2 determina a velocidade de degradação de alguns compostos intermediários pelas espécies sintróficas, sendo um parâmetro potencialmente vantajoso no controlo do processo (Pereira, 2003).

O aumento da concentração de hidrogénio funciona como um indicador de um afastamento do sistema relativamente às suas condições de estado estacionário, em consequência de sobrecargas orgânicas ou hidráulicas, entrada de substâncias tóxicas ou choques térmicos. No entanto, Kidby e Nedwell (1991) investigaram o efeito de sobrecargas hidráulicas nos níveis de hidrogénio no biogás, para avaliar a utilidade deste parâmetro como alarme, indicando a instabilidade do processo, e concluíram que, no caso do passo limitante da conversão dos materiais orgânicos a metano ser a fase de hidrólise, estes níveis só aumentavam após a falha irreversível do sistema, limitando por isso a sua utilidade como detector de problemas operacionais. Para substratos solúveis e facilmente hidrolisáveis, a monitorização do H_2 pode fornecer informações importantes sobre o equilíbrio/desequilíbrio das populações (Nachaiyasit e Stuckey, 1995). Marchaim e Krause (1993) referem que a monitorização das quantidades de H_2 e CO_2 apresenta custos elevados, mas permite estimar a actividade metanogénica das populações em causa.

As relações existentes entre os diversos AOV presentes na digestão anaeróbia têm sido bastante estudadas, uma vez que estes compostos são precursores importantes na formação de metano e são inibidores potenciais do processo quando presentes em concentrações excessivas. Marchaim e Krause (1993)

verificaram que a razão entre os ácidos propiónico e acético aumentava imediatamente após o aumento da concentração da alimentação (sobrecarga orgânica), e antes de ser notória qualquer variação na composição do biogás, sugerindo assim que esta razão pode funcionar como um indicador de um fracasso iminente do processo de digestão anaeróbia, em consequência de situações de sobrecarga. Este método de controlo revela-se mais fácil e mais barato do que a monitorização da fase gasosa do processo. Hill *et al.* (1987) sugeriram que uma razão ácido propiónico/acético superior a 1,4 assinala um fracasso iminente do digestor, recomendando que este indicador deva ser usado conjuntamente com a determinação da concentração de ácido acético.

Actualmente nos sistemas mais avançados de digestão anaeróbia, a instalação final é altamente instrumentalizada, permitindo a monitorização contínua de todas as variáveis importantes para a operação, e possui um sistema de alarme que assinala os desvios relativamente a valores ou estratégias de controlo pré-estabelecidas. Estes sistemas exigem, assim, equipamento e um nível tecnológico apropriado, experiência técnica e ausência de restrições temporais ou económicas (Barford, 1988). Por exemplo dispondo de um algoritmo de diagnóstico ou de identificação de estados, com base na observação das variáveis adequadas, é possível obter uma grande quantidade de informação, com uma boa sensibilidade e no menor tempo possível (Ruiz *et al.*, 2002). A conjugação de modelos dinâmicos com técnicas de monitorização da fase líquida e gasosa revela-se interessante no sentido de estimar e prever em linha o estado do processo e aplicar sistemas de controlo por “*feedback*” (Pohland, 1992).

1.7 Aplicações tecnológicas do processo de digestão anaeróbia ao tratamento de efluentes líquidos

A primeira referência à aplicação do processo de digestão anaeróbia para o tratamento de resíduos data de 1860, num relato do francês Louis Mouras que descreveu a liquefacção da matéria orgânica de um efluente doméstico em condições anaeróbias (Forster, 1994).

Donald Cameron, de Exeter, em Inglaterra, modificou o tanque de Louis Mouras e deu-lhe o nome de “tanque séptico”, e este sistema foi escolhido em 1897 pelo governo local, para o tratamento de todos os efluentes da cidade (Buswell e Neave, 1930). Trata-se do digestor anaeróbio mais simples, sendo ainda actualmente usado em algumas áreas rurais para tratamento dos efluentes domésticos (Rinzema, 1988, Schink, 1988).

Em meados dos anos cinquenta foi introduzida a agitação mecânica, o que melhorou substancialmente o contacto entre as bactérias e os resíduos a tratar (Finnegan, 1994). Nestes sistemas não há retenção de biomassa, sendo o tempo de retenção hidráulico (TRH) igual ao tempo de retenção de sólidos (TRS) e da ordem dos 20 a 30 dias. A redução deste tempo de retenção aumenta o risco de “washout” da biomassa, devido às baixas taxas de crescimento das bactérias anaeróbias (Iza *et al.*, 1991). Este problema é ultrapassado pela introdução dos sistemas com retenção de biomassa (denominados de alta carga), em que a biomassa é mantida no interior do reactor, tornando-se o TRH independente do TRS, sendo considerada como um dos passos mais importantes no desenvolvimento da tecnologia anaeróbia. Desta forma, tornou-se assim possível a operação com TRH muito menores, o que promove uma maior tolerância do sistema a choques orgânicos e à presença de substâncias tóxicas (Speece, 1983). A distinção entre os vários processos de alta carga é fundamentalmente devida ao mecanismo de retenção de biomassa dentro do reactor que pode ocorrer, basicamente, segundo três formas distintas: granulação, recirculação ou adesão a suportes fixos ou móveis (Iza *et al.*, 1991).

Na figura 1.2 estão representados os 4 tipos de reactores que se consideram ser representativos das formas de bio-imobilização acima referidas, nomeadamente: reactor anaeróbio de manto de lamas de fluxo ascendente (UASB - “Upflow Anaerobic Sludge Blanket”) desenvolvido em finais dos anos setenta (Lettinga *et al.*, 1980); os digestores de leite expandido ou fluidizado (Switzenbaum e Jewell, 1980); os processos de contacto (Nahle, 1991); e os processos de leite fixo (Young e McCarty, 1967).

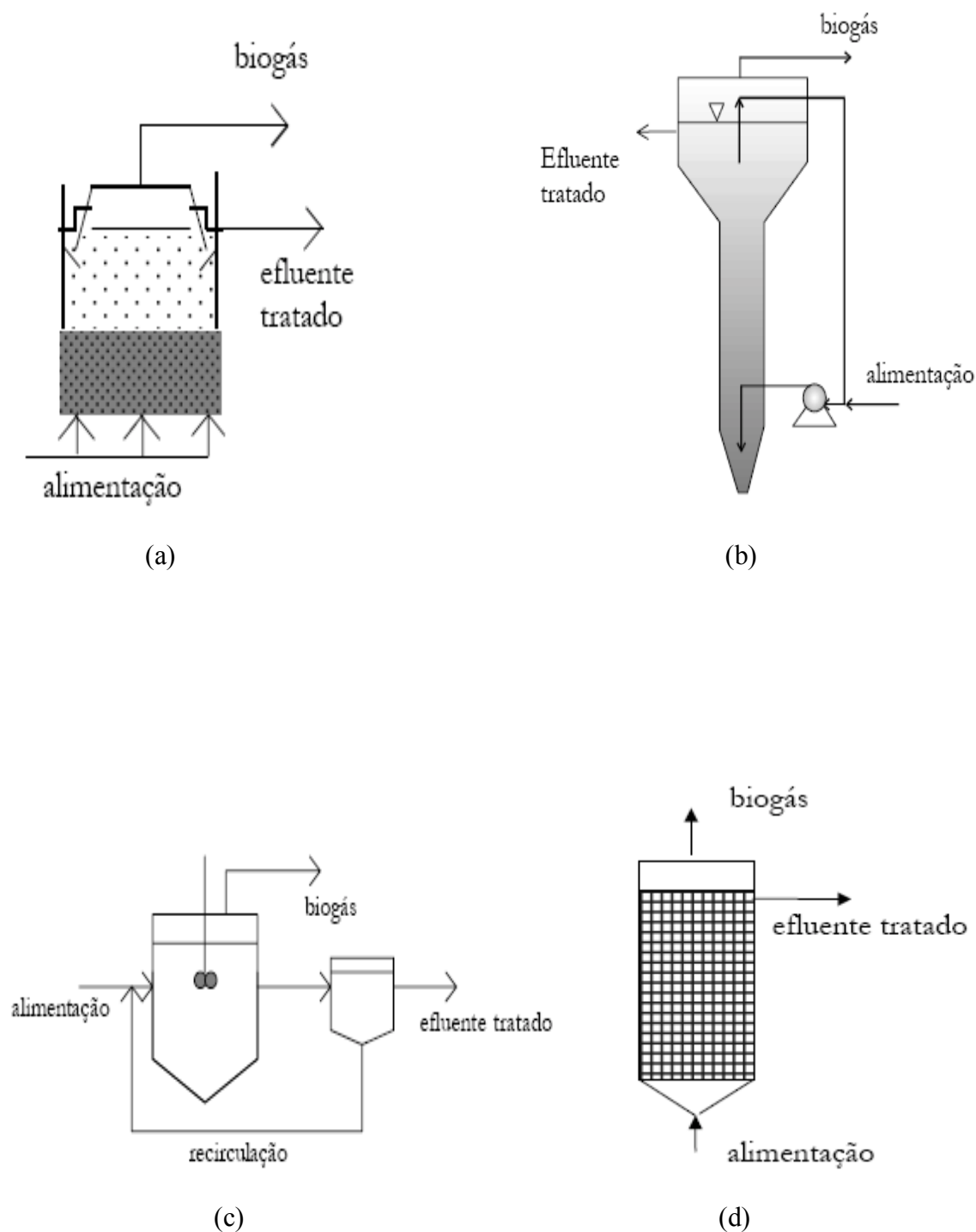


Figura1.2 – Esquemas simplificados de digestores com retenção de biomassa: (a) UASB; (b) Digestor anaeróbio de leito fluidizado; (c) Processo de contacto; (d) Filtro anaeróbio de fluxo ascendente.

UASB

O UASB foi desenvolvido em finais dos anos setenta por Gatzke Lettinga e seus colaboradores na Holanda, e baseia-se na tendência que a biomassa tem para formar agregados densos que são mantidos no interior do reactor pelas suas características de sedimentação e com a ajuda de um separador gás-sólido-líquido (Lettinga *et al.*, 1980).

A biomassa neste sistema constitui grânulos de tamanho variável, entre 0,1 e 8 mm (Hickey *et al.*, 1991) e não está fixada sobre qualquer suporte. Como se pode verificar na Figura 1.2 (a), existem duas zonas distintas neste tipo de reactor: a zona inferior designada por leito de lamas, que tem uma concentração elevada de biomassa constituída em grânulos com elevada velocidade de sedimentação e a zona superior onde predominam flocos de pequeno tamanho e em que a concentração de biomassa é muito menor (Lettinga *et al.*, 1980). O gás produzido e alguma biomassa flutuante que existe na secção superior são separados da corrente líquida de saída por meio de um separador gás-sólido-líquido colocado no topo do digestor.

A aplicação do reactor UASB ao tratamento de vários tipos de efluentes essencialmente solúveis tem sido demonstrada por vários autores (Lettinga *et al.*, 1980, 1983, 1984, Kato, 1994, Florêncio *et al.*, 1997, Ruiz *et al.*, 1997), assim como a sua aplicação termofílica e psicofílica tem sido testada a nível laboratorial (Van Lier *et al.*, 1994, Van Lier *et al.*, 1997, Dinsdale *et al.*, 1997).

Têm sido desenvolvidas algumas configurações de reactores baseados no UASB: o reactor de manto de lamas de leito expandido (EGSB - “*expanded granular sludge bed*”), que consiste num UASB com leito expandido por meio da recirculação do efluente; o reactor de recirculação interna (IC - “*Internal Circulation*”), que consiste em dois ou mais compartimentos do tipo UASB uns sobre os outros e em que o líquido e a biomassa recirculam internamente (Habets *et al.*, 1997); o reactor com vários andares (Van Lier *et al.*, 1994, Guiot *et al.*, 1995); e o reactor horizontal segmentado com anteparas (Grobicki e Stuckey, 1991). Em todos estes sistemas, embora não estritamente necessária, é suposta a utilização de biomassa estruturada em grânulos. A biomassa granular pode ser

obtida a partir de biomassa dispersa alimentada com uma variedade de efluentes industriais. No entanto, os efluentes contendo lípidos são particularmente problemáticos para a formação de biomassa granular. Além dos problemas de toxicidade dos ácidos gordos de cadeia longa, resultantes da hidrólise dos lípidos, são referidos na literatura problemas de adsorção dos ácidos gordos na superfície dos grânulos, tornando-os leves, flutuantes e conduzindo ao “*washout*” (Rinzema, 1988, Hwu, 1997).

A fase de arranque deste tipo de reactor pode tornar-se um passo crítico, uma vez que não estão bem estudados os processos básicos da granulação. Conhecem-se apenas alguns factores que a estimulam (Weiland e Rozzi, 1991, Lettinga, 1995), assim como a ocorrência de deterioração granular que nem sempre é previsível e controlável, sendo um aspecto que tem merecido alguma atenção por parte dos investigadores (Fang *et al.*, 1994, Thaveesri *et al.*, 1994, Alphenaar, 1994).

Digestor anaeróbio de leito expandido ou fluidizado

A biomassa neste tipo de reactor encontra-se fixa num suporte, estando o conjunto fluidizado ou apenas ligeiramente expandido. O suporte pode ser areia, vidro, carvão activado, ou outros materiais porosos (Heijnen, 1986 Chen *et al.*, 1988 Switzenbaum e Jewell, 1980). Tendo em conta que velocidade de sedimentação das partículas é elevada, (cerca de 50 m/h), é necessário aplicar elevadas velocidades ascensionais (10 a 30 m/h), para conseguir a expansão do leito (Heijnen *et al.* 1986). Na prática isso é conseguido utilizando uma recirculação, tal como se indica na Figura 1.2 (b).

Podem ser referidas algumas das vantagens deste tipo de reactores (Fernández-Polanco e Diez, 1988; Chen *et al.*, 1988):

- as concentrações de biomassa são normalmente elevadas, da ordem dos 30 a 40 g SSV/L;
- não há problemas de colmatação do leito;

- é possível o tratamento de efluentes pouco concentrados, devido à elevada velocidade de transferência de massa;
- as perdas de carga não são muito elevadas;
- pode ser utilizado no tratamento de resíduos tóxicos e compostos recalcitrantes, uma vez que o elevado caudal de recirculação permite normalmente a obtenção de condições de mistura total, facultando a diluição desses compostos dentro do reactor.

Heijnen *et al.* (1986) referem as seguintes desvantagens para estes sistemas de tratamento:

- a formação do biofilme que recobre as partículas de suporte é um processo lento, implicando normalmente a necessidade de elevados tempos de arranque;
- é difícil o controlo da espessura do biofilme;
- o consumo energético é elevado, devido principalmente à necessidade de bombagem da corrente de recirculação;
- é difícil e dispendioso conseguir distribuidores de líquido eficientes, em unidades à escala industrial.

Holst *et al.* (1997) referem a instalação de 26 unidades à escala industrial entre 1986 e 1996 aplicadas essencialmente a indústrias agro-alimentares. Salientam que algumas configurações de digestores anaeróbios de leito fluidizado, permitem aplicar cargas orgânicas mais elevadas ($> 60 \text{ kg CQO/m}^3\text{.dia}$) do que para o UASB, para o mesmo tipo de efluente e para os mesmos níveis de eficiência.

Processo de contacto

Trata-se de um processo análogo ao tradicional sistema aeróbio de lamas activadas, sendo composto por um digestor do tipo CSTR e um decantador que provoca a separação e recirculação das lamas, permitindo assim uma elevada concentração de biomassa no digestor Figura 1.2 (c). Frequentemente existe um

sistema de desgasificação entre as duas unidades, que proporciona uma decantação mais eficiente, o que melhora o desempenho geral do sistema (Paris *et al.*, 1983).

A agitação no digestor pode ser realizada mecanicamente ou por meio de injeção do biogás. Apesar desta última ser 2 a 3 vezes mais dispendiosa, revela-se no entanto mais eficiente e permite reter maiores concentrações de biomassa no sistema (25 a 30 g ST/L) (Nähle, 1991).

Leito fixo

O digestor anaeróbio de leito fixo, vulgarmente denominado por filtro anaeróbio foi desenvolvido nos anos sessenta (Young e MacCarty, 1967) e consiste basicamente numa coluna contendo um enchimento de material de suporte, através da qual passa o efluente a ser tratado, em fluxo vertical, no sentido ascendente ou descendente. Na Figura 1.2 (d) está representado um esquema simplificado deste tipo de digestor, no caso do fluxo ser ascendente.

A biomassa desenvolve-se sob a forma aderida na superfície do suporte, e oclusa nos vazios da matriz, podendo esta encontrar-se numa forma floculada ou granular (Young, 1991). O processo de retenção de biomassa num leito fixo de suporte inerte, aplicado com sucesso por todo o mundo no tratamento aeróbio de efluentes, teve uma das suas primeiras aplicações anaeróbias registadas na Finlândia no tratamento do efluente dum tanque séptico (Makkonen, 1953). A par deste registo, existem na literatura referências à utilização do processo ainda no século XIX e nos anos trinta (Callander e Barford, 1983).

Considera-se que a fracção de biomassa que está aderente desempenha um papel secundário devido à sua baixa concentração relativamente à biomassa total acumulada. No entanto, a adesão proporciona uma imobilização mais estável, sendo mais resistente, quando sujeita a choques hidráulicos ou de tóxicos do que a fracção que se encontra oclusa (Speece e Parking, 1983).

As características do enchimento utilizado em filtros anaeróbios são muito variáveis, quer em termos dos materiais utilizados (pedras, tubos de PVC,

esponja de poliuretano, argila expandida, anéis de plásticos e enchimentos plásticos modulares), quer em termos da sua disposição no leito, podendo ser do tipo ordenado ou aleatório (Reynolds, 1986, Marques, 1988, Alves *et al.*, 1997). O tipo de suporte é determinante na distribuição entre as referidas formas de biomassa, apresentando os suportes de plástico cerca de 1/3 da biomassa total aderida (Dahab e Young, 1982, Reynolds, 1986) enquanto os suportes de argila têm percentagens de adesão na ordem dos 80% (Reynolds, 1986).

Este sistema apresenta várias vantagens (Young e McCarty, 1983), das quais se destacam:

- possibilidade de tratar efluentes relativamente pouco concentrados (1000 a 10000 mg CQO/L) à temperatura ambiente, sem necessidade de recirculação de lama;
- permite aplicar cargas orgânicas bastante superiores às aplicadas nos digestores anaeróbios de mistura completa;
- elevado tempo de retenção de sólidos produzindo, geralmente, um efluente com baixos teores de sólidos;
- particular estabilidade, podendo suportar choques orgânicos;
- rápido restabelecimento da actividade após semanas ou mesmo meses sem ser alimentado.

Associados ao filtro anaeróbio, referem-se normalmente problemas de desenvolvimento de canais preferenciais, colmatção do leito, dificuldade de contacto entre substrato e biomassa e limitações difusivas (Young e MacCarty, 1967, Young, 1983). Em geral a fase de arranque do reactor é um processo lento (Weiland, 1987), dependendo da quantidade e qualidade do inóculo, do grau de adaptação da cultura ao efluente, da velocidade de crescimento dos microrganismos e do grau de retenção da biomassa no reactor.

Foram efectuados vários estudos de forma a avaliar o efeito dos principais parâmetros que influenciam a eficiência da operação dos filtros anaeróbios. Song e Young (1986) referem que o desempenho do filtro anaeróbio não é muito

afectado pela superfície específica do leito, não se encontrando também directamente relacionada com a porosidade do meio (Dahab e Young, 1982), concluindo que provavelmente o que será mais importante é a capacidade do meio redistribuir o fluxo dentro da matriz, permitindo um eficiente contacto entre o substrato e a biomassa contida no reactor. Young (1991) conclui que o tempo de retenção hidráulico era o parâmetro que, com mais incidência afectava a performance deste tipo de digestores. No que se refere à recirculação do efluente, verificou que taxas de recirculação elevadas podem provocar velocidades ascensionais excessivas e consequentemente perdas de biomassa, recomendando, contudo, a recirculação do efluente, que em casos de elevadas variações de caudal influente ou em casos de toxicidade, funciona como protecção do processo. Austermann-Haun *et al.* (1994) concluíram que a recirculação, a estratégia de aumento da carga orgânica, a actividade do inóculo e a adição de cálcio eram os parâmetros que mais afectavam o decorrer da fase de arranque.

Young e MacCarty (1967) recomendam que no arranque dum filtro anaeróbio se deve adicionar o inóculo directamente na zona inferior, num volume de 1/3 do volume do reactor, devendo seguidamente operar os digestores anaeróbios a uma carga orgânica mássica baixa, de cerca de 0,1 kg CQO/kg SSV.dia (Henze e Harremões, 1983). Segundo estes autores o aumento da carga orgânica pode ser feito à taxa de 50% por semana, após o início da produção de metano.

2. Objectivos

Este trabalho focalizou-se na possibilidade de utilizar um processo biológico anaeróbio como pré-tratamento de um efluente dificilmente biodegradável de uma indústria alimentar, de modo a se poder submeter posteriormente esse efluente ao tratamento aeróbio. A temática deste trabalho está associada aos problemas operacionais evidenciados na estação de tratamento de águas residuais industriais (ETARI) de uma fábrica nacional de produtos alimentares. Devido ao processamento de produtos alimentares, à base de café e cereais, as águas provenientes da prensagem dos insolúveis de cereais e café ricas em compostos orgânicos com características refractárias, provocam limitações na eficiência do tratamento biológico aeróbio do efluente fabril.

Assim, com o desenvolvimento deste trabalho pretendeu-se estudar aplicabilidade de um processo biológico anaeróbio como pré-tratamento de um efluente gerado na prensagem de compostos insolúveis de cereais e café de uma fábrica nacional de produtos alimentares. O trabalho foi desenvolvido em duas fases: uma primeira fase onde foi avaliado o processo anaeróbio como pré-tratamento e uma segunda fase onde foi determinada a biodegradabilidade aeróbia dos efluentes tratados na primeira fase. Para tal foram então operados dois reactores acidogénicos (um mesofílico e outro termofílico) e um reactor metanogénico (mesofílico), aos quais foram aplicadas cargas orgânicas de uma forma crescente.

De forma a se poder avaliar a biodegradabilidade aeróbia dos vários efluentes obtidos na condição de estado estacionário para cada reactor, esses efluentes foram submetidos a testes descontínuos de tratabilidade aeróbia.

3. Caracterização do problema em estudo

Com o aumento das preocupações ambientais na sociedade (e.g. Sociedade Ponto Verde), nas indústrias (e.g. NP EN ISO 14001), ou na política (e.g. Tratado de Kyoto, 2003, e a declaração do Rio de Janeiro sobre ambiente e desenvolvimento, 1992), tornou-se necessário impor limites de descarga mais restritos, o que conduziu a investir na melhoria e desenvolvimento de processos de tratamentos cada vez mais eficientes, assim como no seu controlo para otimizar os rendimentos de depuração.

Grande parte das indústrias devido a natureza das matérias-primas e dos processos utilizados geram efluentes com elevada carga orgânica. Em particular a indústria alimentar de processamento de café e seus derivados origina correntes com compostos complexos que requerem um tratamento adequado, no contexto da gestão de efluentes.

Uma estação de tratamento de águas residuais industriais, em que a depuração é feita através de processos biológicos em que interactivam várias comunidades de microrganismos, está naturalmente sujeita a perturbações e instabilidade devido essencialmente à variabilidade da quantidade e composição dos efluentes a tratar. As variações nas condições de entrada, a par das variações próprias do sistema biológico, implicam que o controlo deste tipo de sistemas deva ser mais elaborado, robusto e completo, do que o de um processo químico ou físico-químico tradicional.

Face a estes aspectos o tratamento biológico de efluentes da indústria de processamento de café é frequentemente dificultado, surgindo neste contexto, as técnicas de pré-tratamento permitindo a compatibilização destes efluentes para a aplicação de um tratamento biológico, promovendo a solubilização e/ou redução dos compostos orgânicos, de forma a torná-los mais facilmente biodegradáveis. Como referido por Lettinga *et al.*, (1997), desde que se aplique a tecnologia adequada, se proceda a uma aclimatização do consórcio e se mantenham as

condições ambientais óptimas, o processo de digestão anaeróbia poderá ser, num futuro próximo, aplicado como pré-tratamento de qualquer tipo de efluente.

Os problemas evidenciados na estação de tratamento de águas residuais industriais (ETARI) de uma fábrica nacional de produtos alimentares devem-se ao facto de se produzirem produtos alimentares à base de café e cereais. A prensagem dos insolúveis destes produtos, gera águas ricas em compostos orgânicos com características refractárias que associado a uma produção faseada de diferentes produtos alimentares constituídos por diferentes matérias-primas, se reflecte na composição do efluente fabril e consequentemente na capacidade de resposta do sistema de tratamento. Em condições normais a qualidade do efluente fabril tratado na ETARI cumpre os requisitos de descarga legalmente impostos em termos de pH, SST, CQO e CBO₅. No entanto o cumprimento dos valores limites de descarga é comprometido quando as águas resultantes da prensagem dos insolúveis de cereais e café (designado efluente das borras) são encaminhadas para a ETARI.

O efluente das borras, para além de aumentar a carga orgânica alimentada ao sistema de tratamento biológico, também aumenta o teor de substâncias refractárias, provocando desta forma o incumprimento dos limites mínimos legais em relação a carência química de oxigénio, dada a incapacidade da biomassa aeróbia em degradar esses compostos. Com o intuito de minimizar estes problemas no que diz respeito à exploração da ETARI, implementaram-se acções relacionadas com a alteração das condições operatórias dos reactores biológicos. A nível produtivo implementaram-se acções preventivas que consistem no armazenamento dos compostos insolúveis de café e cereais, gerindo desta forma o volume de efluente das borras que é encaminhado para a ETARI.

Por outro lado estas acções têm consequências na optimização do processo produtivo e no funcionamento da ETARI. Uma forma de contornar estas restrições poderá passar por submeter o efluente das borras a um pré-tratamento para melhorar a sua biodegradabilidade antes de se integrar esse efluente no sistema de tratamento biológico aeróbio juntamente com o restante efluente fabril. Os pré-tratamentos geralmente utilizados para aumentar a biodegradabilidade deste tipo

de efluentes incluem processos químicos e biológicos. Os processos químicos possibilitam a destruição dos compostos orgânicos recalcitrantes presentes no efluente a tratar, aumentando assim a sua biodegradabilidade. No entanto, estes tratamentos devido ao consumo elevado de químicos e energia são muito dispendiosos. Os processos biológicos anaeróbios surgem neste contexto como uma alternativa viável, uma vez que possibilitam a degradação biológica dos compostos orgânicos mais complexos, dando origem a compostos mais simples e mais facilmente biodegradáveis por via aeróbia. Tendo em conta os encargos económicos os processos biológicos apresentam-se como os mais atractivos.

Este trabalho teve como finalidade avaliar a aplicabilidade da digestão anaeróbia como pré-tratamento do efluente gerado na prensagem de compostos insolúveis de cereais e café de uma fábrica nacional de produtos alimentares de forma a ser possível integrar posteriormente esse efluente no tratamento biológico aeróbio sem comprometer o seu funcionamento, de modo a poder continuar a respeitar os limites de descarga legalmente impostos.

Nesse sentido foram operados 3 reactores contínuos do tipo MBBR "moving bed biofilm reactor", dois acidogénicos e um metanogénico. Os reactores acidogénicos foram operados a duas gamas de temperatura (mesofílica e termofílica) e sem controlo de pH. Foram submetidos a uma matriz experimental que consistiu na aplicação de cargas orgânicas crescentes. Os efluentes tratados obtidos nos vários estados estacionários de cada reactor foram posteriormente submetidos a ensaios descontínuos de biodegradabilidade aeróbia de forma a avaliar a sua capacidade de degradação aeróbia.

4. Metodologia

4.1 Descrição do esquema laboratorial

Numa primeira fase do trabalho experimental foi avaliado o processo de acidificação anaeróbia como pré-tratamento do efluente das borras. A figura 4.1 representa o esquema da instalação experimental utilizada.

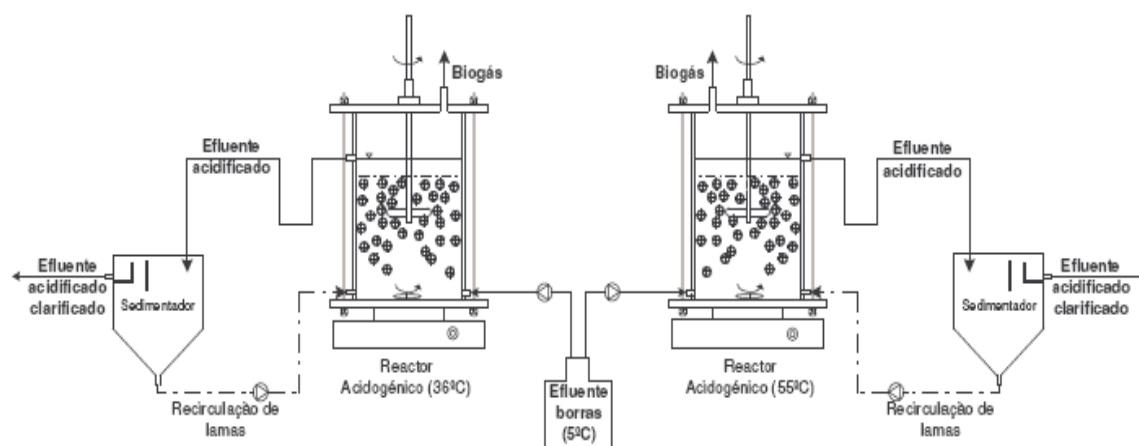


Figura 4.1 – Representação esquemática da instalação laboratorial (adaptada de Soares, 2008).

Os reactores foram construídos em acrílico com um volume útil de 2,54 L e 13,5 cm de diâmetro. A montagem foi feita por encaixe de um corpo cilíndrico em duas placas de acrílico de formato rectangular. Cada placa possuía rasgos com um anel o-ring de forma a garantir a estanquidade após o encaixe por pressão do corpo cilíndrico. Cada reator possuía duas saídas de fundo, uma delas correspondia a tubagem para a alimentação e a outra para a recirculação de lamas. A alimentação a cada reator foi realizada por uma bomba peristáltica (Watson-Marlow 101UR) de funcionamento contínuo e com velocidades de rotação variável, o que permitiu controlar o caudal pretendido.

Como se pode ver pelo esquema da figura 4.1 os reactores também possuem uma tubagem lateral em forma de U para a saída do efluente. Esta configuração permite evitar a saída de biogás juntamente com o efluente acidificado. O efluente acidificado de cada reactor foi conduzido por essa tubagem lateral para um sedimentador (volume total = 0,84 L), e a biomassa aí retida foi recirculada (de 2 em 2 dias) para o reactor.

De forma a garantir condições de mistura na zona de alimentação e o movimento do enchimento no interior do reactor foi adoptado um sistema de agitação constituído por um agitador magnético (marca Bunsem, modelo MC-8) e um motor eléctrico (marca Heidolph, modelo RZR2020). O agitador magnético proporcionou boas condições de agitação na base do reactor ao induzir o movimento giratório de um magnete colocado no seu interior. O motor por intermédio de uma correia permitia a rotação de um veio de agitação com uma hélice, colocado a cerca de 13 cm da base do reactor (figura 4.2). O veio de agitação possuía uma rede em aço inox acopolada (figura 4.2), com uma malha de dimensões inferiores às dimensões das peças de enchimento, de forma a garantir a submersão do enchimento (figura 4.4) e melhorar o seu movimento no interior do reactor.

A temperatura de operação dos rectores (35°C ou 55°C) foi garantida por intermédio de uma serpentina constituída por um tubo de plástico enrolada ao corpo cilíndrico de cada reactor onde circulava água aquecida por uma bomba termostática (marca Thermo Electro, modelo Haake C-10), funcionando em circuito fechado.

O biogás produzido foi conduzido por uma tubagem de teflon inserida no topo do reactor a um borbulhador. Após o borbulhamento o gás produzido deslocava um volume de água contido numa ampola, permitindo contabilizar desta forma o volume de biogás produzido (figura 4.3). A tubagem de saída do biogás possuía um sistema de amostragem logo após a saída do reactor que era constituído por uma derivação em T selada por um septo de borracha, permitindo a recolha com uma seringa de amostras para análise de biogás (figura 4.2).

As seguintes figuras permitem visualizar a instalação experimental e algumas das características já mencionadas.

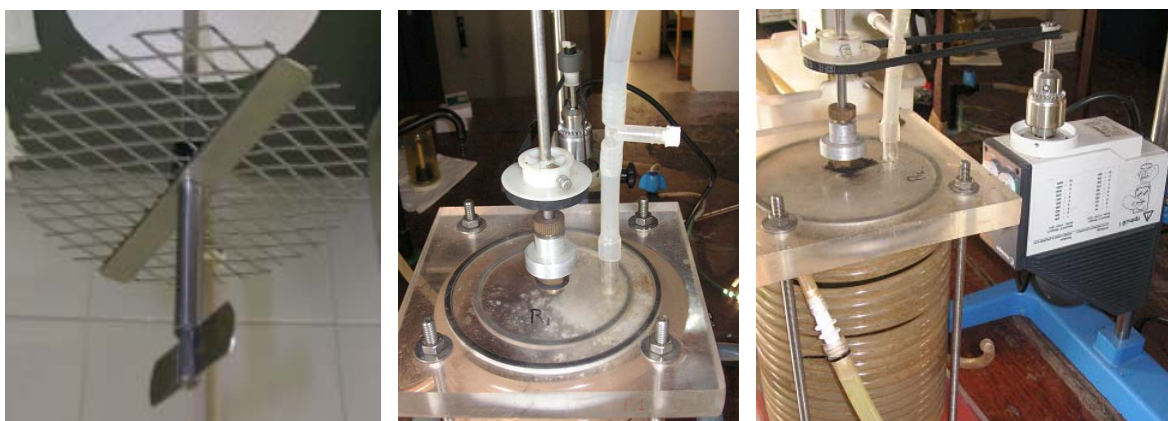


Figura 4.2 – Rede acoplada ao veio de agitação; sistema de amostragem de biogás (derivação T); sistema de agitação superior (motor-correia-veio).



Figura 4.3 – Aspecto geral de um dos reactores e do seu sistema de medida de biogás (tubagem-borbulhador-ampola).

Cerca de 40% do volume útil de cada reactor foi ocupado com um meio de enchimento inerteil e móvel, designado Bioflow 9 (figura 4.3). Na tabela 4.1 estão representadas as principais características desse enchimento.

Tabela 4.1 – Características do enchimentobioflow 9.**Figura 4.4** – Enchimento Bioflow 9.

Área superficial específica (m^2m^{-3})	800
Diâmetro (mm)	9
Altura (mm)	7

4.2 Condições de arranque e operação dos reactores

Este trabalho surgiu no seguimento do estudo de acidificação anaeróbia realizado por Soares (2008), na universidade de Aveiro. Aquando do início do trabalho experimental os reactores (R1 e R2) já se encontravam a operar acerca de quatro meses. Como tal não foi realizado nenhum tipo de adaptação da biomassa, uma vez que esta que já se encontrava adaptada. O reactor R1 e o reactor R2 são reactores contínuos acidogénicos, operando um na gama mesofílica (36°C) e o outro na gama termofílica (55°C) respectivamente. O trabalho experimental consistiu na aplicação de uma matriz experimental (tabela 4.2) composta por 3 fases experimentais, correspondendo a cada fase uma carga orgânica imposta aos reactores.

Tabela 4.2 – Matriz experimental de carga orgânica aplicada (g CQOs/L.d) aos reactores acidogénicos.

	Fase 1	Fase 2	Fase 3
CQO alimentação ($\text{g O}_2/\text{L}$)	2,5	5,0	10,0
TRH (dia)			
0,5	5,0	10,0	20,0

A aplicação de uma nova carga orgânica, foi feita sempre que o comportamento dos reactores evidenciava ter atingido o estado estacionário. A obtenção do estado estacionário era observada pela constância dos valores de CQO solúvel à saída do reactor.

A alimentação dos reactores foi preparada de 3 em 3 dias, tendo em conta as quantidades de efluente de borras, nutrientes e NaHCO_3 para cada condição operatória. Na tabela 4.3 estão representadas as quantidades que foram preparadas consoante a carga orgânica aplicada.

Tabela 4.3 – Composição da alimentação, de acordo com cada condição operatória.

Condições operatórias			Substrato	Nutrientes ⁽²⁾		
Carga orgânica (g CQOs/L.d)	Concentração Alimentação (g CQOs/L)	TRH (dia)	Volume efluente borras ⁽¹⁾ (mL/L alimentação)	Massa $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$ (mg/L alimentação)	Massa KH_2PO_4 (mg/L alimentação)	NaHCO_3 (mg/L alimentação)
5,0	2,5	0,5	74,1	93,8	27,5	250
10,0	5,0	0,5	148,3	187,7	55,1	500
20,0	10,0	0,5	296,6	375,4	110,2	1000

(1) [CQOs] = 33,7 g/L (após decantação); (2) CQO:N:P = 100:1,75:0,25.

Devido a um problema operacional que ocorreu no reactor acidogénico que operava na gama termofílica (55°C), não foi possível cumprir a matriz experimental. Foram observadas fissuras na estrutura cilíndrica em acrílico, pelas quais se perdeu cerca de 2/3 do conteúdo do reactor. As fissuras presumem-se que estejam relacionadas com a temperatura à qual o reactor se encontrava a operar (55°C) acerca de 4 meses, juntamente com a pressão exercida pela placa superior e inferior no corpo cilíndrico. No seguimento do estudo planeado deu-se início ao arranque de um reactor metanogénico (R3), utilizando a instalação experimental usada para o reactor acidogénico termofílico, após reparação do corpo cilíndrico. Após a fase de adaptação da biomassa ao efluente das borras, que consistiu no aumento gradual da concentração da alimentação (de 0,1 g CQOs/L até 0,5 g CQOs/L) de forma crescente ao longo dos primeiros 14 dias de

operação em circuito fechado (a alimentação e o efluente de saída estavam no mesmo bidão).

Posteriormente a este período deu-se início à aplicação de um plano de cargas orgânicas de acordo com a matriz representada na tabela 4.4.

Tabela 4.4 – Matriz experimental de carga orgânica aplicada (g CQOs/L.d) ao reactor metanogénico.

		Fase 1	Fase 2
CQO alimentação (g O ₂ /L)	TRH (dia)	0,5	1,0
	0,5	1,0 → 2,0	

No seguimento do que foi realizado para os reactores acidogénicos, também neste caso foi preparada a alimentação de acordo com os requisitos em efluente de borras, nutrientes e NaHCO₃ apresentados na tabela 4.5.

Tabela 4.5 – Composição da alimentação de acordo com as condições operacionais impostas ao reactor metanogénico.

Condições operatórias			Substrato	Nutrientes		NaHCO ₃ (mg/L alimentação)
Carga orgânica (g CQOs/L.d)	Concentração Alimentação (g CQOs/L)	TRH (dia)	Volume efluente borras (mL/L alimentação)	Massa (NH ₂) ₂ CO (mg/L alimentação)	Massa KH ₂ PO ₄ (mg/L alimentação)	
1,0	0,5	0,5	14,8	18,8	5,5	50
2,0	1,0	0,5	29,6	37,5	11,0	100

(1) [CQOs] = 33,7 g/L (após decantação); (2) CQO:N:P = 100:1,75:0,25.

4.3 Monitorização da operação dos reactores

De forma a se poder controlar o desempenho dos reactores, ao longo do período de operação, foram monitorizados vários parâmetros de acordo com a periodicidade apresentada na tabela 4.6.

Tabela 4.6 – Plano de monitorização de cada reactor.

Plano de monitorização	
3 vezes por semana	
Parâmetro	Ponto de amostragem
CQO_{solúvel} alimentação	Bidon de armazenamento da alimentação
CQO_{solúvel} efluente acidificado	Após sedimentador
pH	
AOVs efluente Acidificado	
Caudal	Efluente tratado (saída do reactor)
Biogás e composição	Linha de biogás (saída do reactor)

Sempre que se efectuava uma mudança de carga orgânica, para além dos parâmetros monitorizados 3 vezes por semana, também se fazia a análise da CQO_{total}, SST e SSV do efluente tratado após o sedimentador.

4.4 Parâmetros de controlo

As metodologias utilizadas para quantificar os parâmetros analíticos apresentados na tabela 4.6 são de seguida apresentadas. As análises da CQO, SST e SSV foram realizadas em triplicado.

4.4.1 Carência Química de Oxigénio (CQO)

O valor da Carência Química de Oxigénio (CQO) é uma medida do oxigénio equivalente à fracção orgânica da amostra susceptível de ser oxidada por um oxidante químico energético, em condições controladas.

Para determinação deste parâmetro foi utilizado o método do refluxo fechado com determinação por espectrofotometria (método 5520 D descrito em APHA (1998)), para quantificar a CQO das amostras analisadas. Neste método foi utilizado o dicromato de potássio (numa quantidade em excesso, em condições ácidas) como oxidante, devido a sua maior capacidade de oxidação, aplicabilidade a uma grande variedade de amostras e facilidade de manipulação. A maioria dos compostos orgânicos é oxidada a 95% - 100% do valor teórico.

A digestão foi realizada durante duas horas, a 150°C e a amostra continha dicromato de potássio, juntamente com ácido sulfúrico (de forma proporcionar condições ácidas), sulfato de prata (para oxidar os álcoois e ácidos de cadeia longa) e sulfato de mercúrio (para eliminar a interferência dos cloretos). Após a digestão das amostras, e arrefecimento até à temperatura ambiente, foi determinado por via espectrofotométrica a quantidade de dicromato de potássio que não reagiu. A absorvância das amostras digeridas foi medida utilizando um espectrofotómetro (marca Aqualytic, modelo PC023212), que converte as absorvâncias das amostras em concentração (mg O₂/L). Quando se pretendeu estudar a carência química de oxigénio relativa a fracção filtrada (CQO solúvel), efectuou-se previamente a sua filtração com papel de filtro.

4.4.2 Composição biogás

A composição do biogás foi determinada por cromatografia gasosa num cromatógrafo gasoso, da marca SRI, modelo 8610 C, equipado com detector de condutividade térmica (TCD), representado na figura 4.5. Este equipamento forneceu valores relativamente à percentagem (v/v) de metano (CH₄), de dióxido de carbono (CO₂) e de outros componentes gasosos (N₂, H₂, H₂S, etc.).



Figura 4.5 – Cromatógrafo gasoso com detector de condutividade térmica (TCD).

Na tabela 4.7 estão apresentadas as condições de operação do cromatógrafo.

Tabela 4.7 – Condições de operação do cromatógrafo gasoso.

Tipo e caudal de gases	Hélio (gás de arraste); $Q=10 \text{ ml min}^{-1}$
Características da coluna	Coluna Capilar com 0,53 mm de diâmetro interno
Temperaturas	Forno: 60°C , durante 10 min
Volume de amostra	1 ml
Software de integração	PeaK Simple (2004), versão 3.29

A figura 4.6 apresenta um exemplo de um cromatograma obtido pela análise de uma amostra.

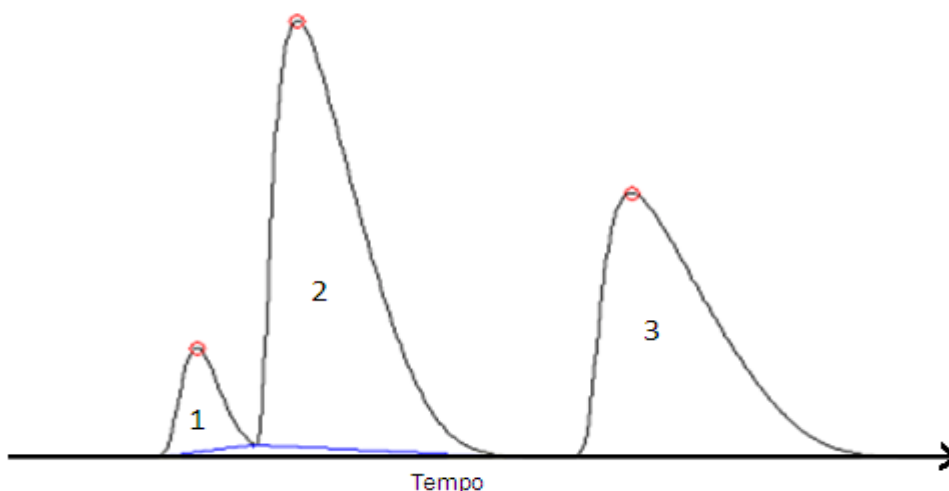


Figura 4.6 – Cromatograma obtido pela análise da composição de biogás.

No cromatograma é possível identificar 3 picos aos quais corresponde: 1 – outros componentes gasosos (N_2 , H_2 , H_2S , etc.); 2 – CH_4 ; 3 – CO_2 .

O aparelho foi calibrado com padrões gasosos de composição conhecida (100% CO_2 e 100% CH_4), usando um padrão misto com uma mistura gasosa de 70% CH_4 e 30% CO_2 . Para converter a área de cada pico do cromatograma em % de composição de composição de gás, foram usadas as seguintes relações obtidas pela calibração:

$$\%CH_4 = 1,0151 \times (\text{Área}_{CH_4} / \text{Área}_{total}) \times 100\% \quad (4.1)$$

$$\%CO_2 = 0,9955 \times (\text{Área}_{CO_2} / \text{Área}_{total}) \times 100\% \quad (4.2)$$

4.4.3 Ácidos orgânicos voláteis (AOVs)

Os Ácidos Orgânicos Voláteis (AOVs) foram determinados por cromatografia gás-líquido, através de um cromatógrafo (marca Chrompack, modelo CP9001) representado na figura 4.7, com detector de ionização de chama (FID). Na tabela 4.8 estão representadas as condições de operação deste aparelho. As amostras utilizadas para análise dos AOVs foram previamente filtradas, acidificadas com ácido fórmico (1:10 (v/v)) e refrigeradas a 4°C em frascos de polietileno, até serem analisadas.

Tabela 4.8 – Características de operação do cromatógrafo gás-líquido.

Tipo e caudal de gases	Hélio (gás de arraste); Q=8 mL/min Azoto (gás de make-up); Q=30 ml/min Hidrogénio (gás para chama); Q=30 ml/min Ar (gás para chama); Q=300 ml/min
Características da coluna	Coluna Chrompack CO-sil5 CB (25 m x 0,53 mmID)
Temperaturas	Detector: 300°C; Injector: 270°C; Coluna: 290°C; Forno: 70°C
Programa de temperaturas	70°C (1min); rampa de 20°C min ⁻¹ ; 100°C (1,5min); rampa de 10°C min ⁻¹ ; 140°C (2 min)
Volume de amostra	0,5 µL
Software de integração	Jasco-Borwin (1998), versão 1.50



Figura 4.7 – Cromatógrafo utilizado na análise dos AOVs.

Na figura 4.8 representa um cromatograma onde é possível identificar e quantificar a composição de sete ácidos orgânicos voláteis (acético, propiónico, iso-butírico, n-butírico, iso-valérico, n-valérico e n-capróico).

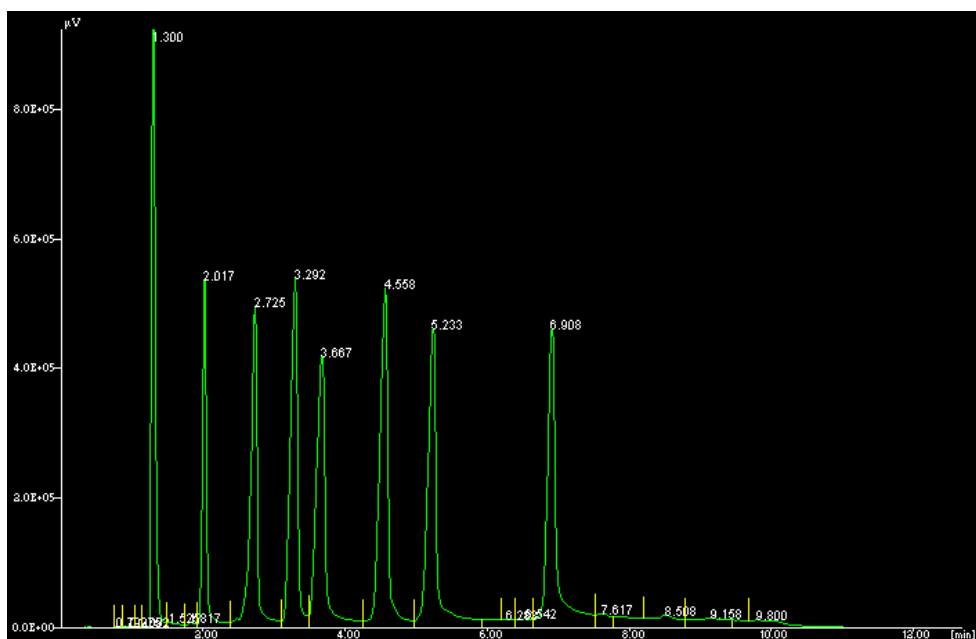


Figura 4.8 – Cromatograma obtido na análise de AOVs de uma amostra.

Após calibração do aparelho com padrões mistos de concentração conhecida, é estabelecida uma relação entre a área de cada pico do cromatograma e a concentração de AOV correspondente, possibilitando desta forma a identificação e quantificação de cada AOV. A cada padrão foi adicionado ácido fórmico na

proporção de 1:10 (v/v), de forma a permitir que a matriz dos padrões fosse idêntica à matriz das amostras.

4.4.4 pH

Este parâmetro foi medido com um aparelho portátil Consort C-515 acoplado a um eléctrodo de pH de xerolite. Antes de cada análise o aparelho era calibrado com soluções tampão (comerciais) de pH conhecido (pH=4 e pH=7).

4.4.5 Alcalinidade

A alcalinidade foi determinada pelo método 2320 da 18ª edição do Standard Methods (1992) (APHA, 1992), usando o aparelho portátil Consot C-515 para medir a quantidade de uma solução de ácido forte (HCl) de concentração conhecida necessária para titular 50 ml de amostra até se atingir o valor de pH=4.5.

O teor de alcalinidade medido como carbonato de cálcio na amostra, em mg/L, é dado por:

$$Alcalinidade(mg_{CaCO_3/L}) = \frac{V_{HCl} \times N_{HCl} \times 50000}{V_{amostra}} \quad (4.3)$$

Em que:

V_{HCl} = volume de HCl adicionado na titulação da amostra (ml);

N_{HCl} = normalidade do HCl (eq/mol); no caso do HCl, a normalidade é igual à molaridade (mol/L);

$V_{amostra}$ = volume de amostra (ml).

4.4.6 Sólidos

O teor de Sólidos Totais (ST) foi determinado por evaporação da fracção líquida de uma amostra a 105°C, durante 24 horas, e posterior pesagem do resíduo obtido (método 2540 B, APHA (1998)). Para determinar o teor de Sólidos Suspensos Totais (SST), procedeu-se à filtração de um dado volume de amostra

com papel de filtro. O resíduo contido no filtro foi seco a 105°C, durante 24 horas e posteriormente pesado (método 2540 D, APHA (1998)). A fracção volátil dos ST e dos SST foi obtida por calcinação a 550°C, durante 2 horas, do resíduo obtido por evaporação ou filtração respectivamente e sua posterior pesagem (método 2540 E, APHA (1998)).

4.5 Testes de biodegradabilidade aeróbia

Com estes testes pretendia-se avaliar a possibilidade de submeter o efluente das borras a um pré-tratamento biológico anaeróbio, de forma a melhorar a sua biodegradabilidade, e permitir posteriormente o seu tratamento num sistema de tratamento biológico em condições aeróbias. Para tal, foram realizados ensaios descontínuos de biodegradabilidade aos vários efluentes produzidos nas unidades experimentais em condições de estado estacionário. Durante estes testes foi avaliada a capacidade de degradação biológica dos efluentes analisados, através do consumo de oxigénio utilizado por uma biomassa aeróbia na degradação da matéria orgânica. Desta forma o consumo de oxigénio medido permite indicar a facilidade com que os efluentes podiam ou não ser degradados aerobicamente.

Para a realização destes ensaios utilizou-se um método respirométrico usando o sistema OXITOP® da marca VWR. Este sistema fornece directamente a quantidade de oxigénio consumido pelos microrganismos durante a degradação da matéria orgânica presente numa amostra contida no frasco de incubação (figura 4.9). Estes ensaios tiveram uma duração de 96 horas e foram realizados a 20°C com agitação constante.

Nestas condições os microrganismos consomem o oxigénio dissolvido na fase líquida (amostra), que é continuamente substituído por dissolução do oxigénio presente na fase gasosa (volume de ar) existente no frasco de incubação. As reacções que envolvem a decomposição da matéria orgânica por parte dos microrganismos originam a formação de CO₂ que é libertado para a fase gasosa

do frasco, que é removido por absorção no NaOH(s) existente no copo de selagem. Desta forma no interior do frasco de incubação gera-se uma pressão negativa, que é medida por um sensor de pressão que faz parte deste sistema (figura 4.9) e que recolhe os dados de pressão com uma periodicidade pré-definida de 16 min.



Figura 4.9 – Sistema respirométrico OXITOP® (1-Agitador magnético; 2-Volume líquido (efluente, nutrientes e biomassa); 3-Copo de selagem com NaOH(s); 4-Frasco de incubação (510 ml); 5-sensor de pressão).

Na tabela 4.9 estão definidas as condições em que foram realizados os ensaios de biodegradabilidade aeróbia para os efluentes obtidos nas condições de estado estacionário.

Tabela 4.9 – Condições experimentais para realização do ensaio de biodegradabilidade.

Designação do efluente*	Condições de operação dos reactores		Condições do ensaio de biodegradabilidade aeróbia		
	[CQOs] Alimentação (g CQOs/L)	TRH (dia)	Volume efluente (ml)	Volume total (efluente+ inoculo+ nutrientes+água) (ml)	Concentração de inoculo (g SSV/L)
1R1	2,5	0,5	50	75	2,5
2R1	5,0	0,5	50	75	2,5
3R1	10,0	0,5	50	75	2,5
1R3	1,0	0,5	50	75	2,5
2R3	2,0	0,5	50	75	2,5

*1R1 a 3R1 representa a designação do efluente obtido para o estado estacionário do reactor R1 para as fases experimentais 1, 2 e 3; 1R3 e 2R3 representam a designação do efluente obtido para o estado estacionário do reactor R3 para as fases experimentais 1 e 2.

Com o intuito de se poder comparar a biodegradabilidade dos efluentes testados com o efluente das borras sem qualquer tipo de tratamento, foi realizado um ensaio ao efluente das borras nas condições que estão definidas na tabela 4.10.

Tabela 4.10 – Condições do ensaio de biodegradabilidade ao efluente das borras.

Designação do efluente	[CQOs] Alimentação (g CQOs/L)	Condições do ensaio de biodegradabilidade aeróbia		
		Volume efluente (ml)	Volume total (efluente+inocul+ nutrientes+água) (ml)	Concentração de inoculo (g SSV/L)
Borras	5,0	50	75	2,5

A biomassa utilizada nos ensaios de biodegradabilidade como inóculo, foi proveniente de um dos reactores biológicos existente na estação de tratamento de águas residuais industriais (ETARI) da fábrica nacional de produtos alimentares.

Antes da sua utilização nos ensaios, a biomassa foi adaptada ao efluente das borras num reactor descontínuo munido de agitação e fornecimento de oxigénio por difusão de ar comprimido. Durante uma semana o reactor foi alimentado diariamente com o efluente das borras, sendo realizada a extracção do clarificado antes de cada alimentação. A alimentação foi neutralizada com a adição de NaOH e complementada com nutrientes. A biomassa adaptada antes de ser utilizada nos ensaios de biodegradabilidade como inóculo, foi lavada de forma a evitar a contribuição de compostos orgânicos provenientes de fontes externas aos efluentes testados.

5. Ensaio de pré-tratamento anaeróbio

Com o objectivo de melhorar a biodegradabilidade aeróbia do efluente proveniente da prensagem das borras de café da indústria alimentar foram utilizadas 3 unidades laboratoriais constituídas por reactores anaeróbios de leito móvel MBBR (“moving bed biofilm reactor”). Foram operados dois reactores acidogénicos (R1 e R2) e um metanogénico (R3).

A monitorização das unidades laboratoriais durante o período de operação permitiu obter dois tipos de resultados: de evolução temporal e de estado estacionário.

Os resultados experimentais de evolução de vários parâmetros permitiram avaliar o comportamento dos reactores ao longo do tempo, para cada condição operatória, possibilitando nomeadamente a identificação de estados estacionários através da observação da constância dos valores de CQO solúvel à saída do reactor.

5.1 Resultados experimentais dos reactores acidogénicos

Como já referido anteriormente os reactores acidogénicos (R1 e R2) já se encontravam em funcionamento quando se deu início a este trabalho, estando a ser operados a uma carga orgânica de 5gCQOs/L.d e 10gCQOs/L.d respectivamente. Na tabela 6.1 são apresentadas as condições operacionais aplicadas aos reactores acidogénicos de acordo com a matriz experimental definida na tabela 4.2.

Tabela 5.1 – Parâmetros operacionais aplicados aos reactores acidogénicos R1 e R2.

	Fase1		Fase 2	Fase 3
Reactor	R1	R2	R1	R1
Período de operação (dias)	0-37	0-16	38-69	70-120
Carga orgânica (g CQOs/L.d)	5,07 ±0,62	10,28 ±1,95	9,84 ±0,45	19,94 ±1,36
Caudal (L/d)	5,06 ±0,15	5,12 ±0,18	5,10 ±0,17	5,05 ±0,15
TRH (dia)	0,48 ±0,06	0,53 ±0,16	0,51 ±0,11	0,54 ±0,08
Alimentação (g CQOs/L)	2,54 ±0,31	5,14 ±1,08	4,92 ±0,19	9,95 ±0,59

Como se pode verificar pela análise da tabela 5.1, o reactor R2 só teve um período de funcionamento de 16 dias devido a um problema operacional. Como resultado não foi possível testar todas as fases da matriz experimental proposta (Tabela 4.2). A continuidade deste reactor foi impossibilitada devido ao aparecimento de fissuras na estrutura cilíndrica em acrílico, pela qual se perdeu cerca de 2/3 do seu conteúdo. As fissuras presumem-se que estejam relacionadas com a temperatura à qual o reactor se encontrava a operar (55°C) acerca de 4 meses, juntamente com a pressão exercida pela placa superior e inferior no corpo cilíndrico. Assim, não foi possível continuar a operar o reactor na gama termofílica, dado o risco elevado da sua ruptura.

5.1.1 Análise dos resultados de evolução temporal

Em seguida são apresentados os resultados de evolução apenas para o reactor R1, uma vez que o reactor R2 só operou durante 16 dias, correspondendo apenas à primeira fase da matriz experimental. Posteriormente é feita uma síntese dos resultados através da análise de estado estacionário para cada reactor. Os parâmetros que são analisados graficamente correspondem a CQO solúvel à entrada e saída do reactor, bem como à sua percentagem de remoção, à carga

orgânica aplicada, ao pH do efluente acidificado, ao grau de acidificação e aos AOVs e biogás produzido.

Remoção da CQO solúvel

A figura 5.1 apresenta a percentagem de remoção da CQO ao longo do tempo de operação do R1, bem como a variação da CQO solúvel à entrada e saída do reactor, permitindo assim identificar o estado estacionário para cada fase.

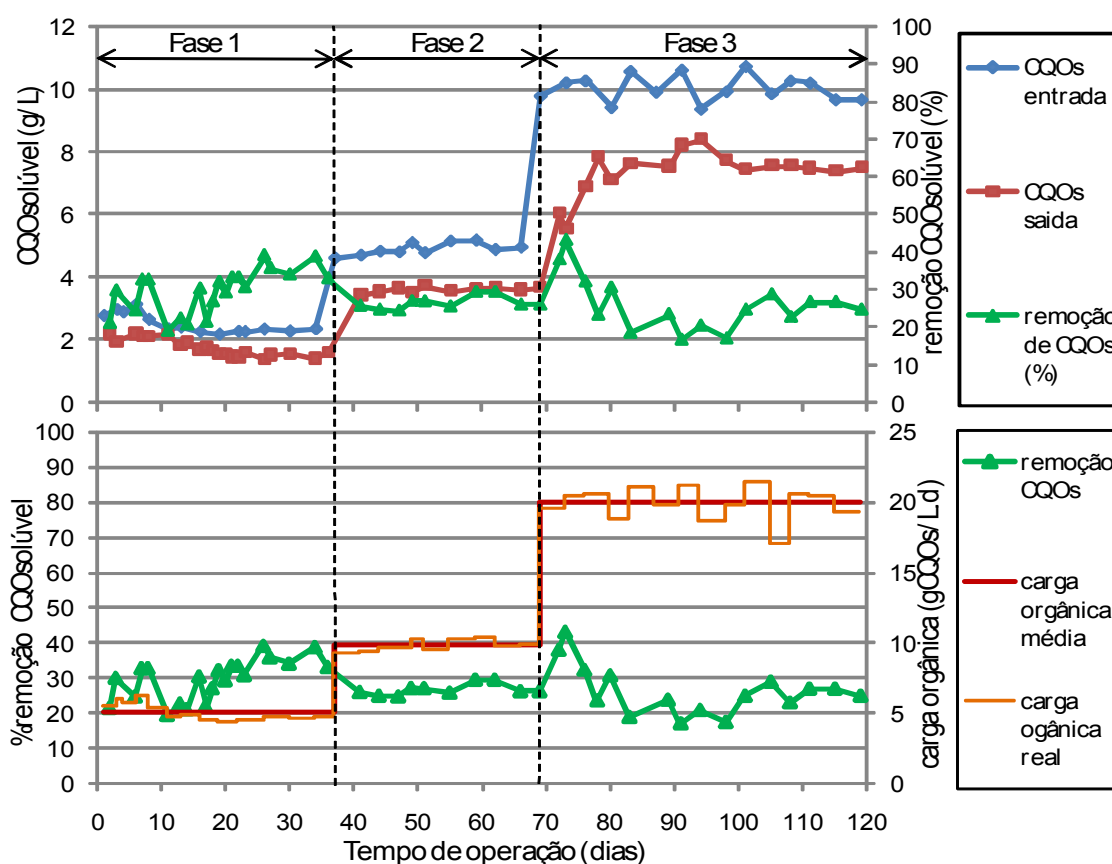


Figura 5.1 – Variação da CQO solúvel à entrada e saída do reactor R1 e da sua percentagem de remoção ao longo do tempo de operação; Variação da percentagem de remoção de CQO solúvel e da carga orgânica aplicada ao reactor R1 ao longo do tempo de operação.

Ao longo dos 120 dias de operação foram aplicadas 3 cargas de uma forma crescente (Fases 1 a 3), traduzidas pelo aumento da CQO solúvel da alimentação e à manutenção do caudal em 5 L/d, de acordo com a matriz experimental

apresentada na tabela 4.2. Através da análise do gráfico da figura 5.1 podemos verificar que a resposta do reactor em termos de estabilização da CQO solúvel à saída do reactor foi mais rápida nas primeiras duas cargas (5,1 g CQOs/L.d e 9,8 g CQOs/L.d), enquanto na última carga (20,0 g CQOs/L.d) houve uma grande variação nos primeiros dias (72º - 94º dia) com valores de CQOs à saída compreendidos entre 5,6 e 8,4 (g/L). Em termos de remoção da CQO solúvel, sempre que houve incrementos nas cargas orgânicas aplicadas verificou-se uma diminuição da percentagem de remoção. Essa diminuição é mais evidente da primeira para a segunda carga (Fases 1 e 2) onde a percentagem de remoção passa de 36% para os 28%, enquanto na última carga (Fase 3) diminui para os 26% (percentagens calculadas através da média dos valores de CQOs obtidos na última semana de cada carga).

Grau de acidificação

De forma a avaliar o desempenho dos reactores em termos de acidificação, ou seja, a fracção de substrato que é transformada nos diversos produtos metabólicos intermediários do processo anaeróbio (AOVs, álcoois, aldeídos, etc.) em resultado da actividade das bactérias acidogénicas foi calculado o grau de acidificação.

De acordo com Oktem (2006), nos casos em que o substrato é constituído por uma grande variedade de compostos (neste caso o efluente proveniente da prensagem de borras de café), a concentração total de AOVs produzidos durante a acidificação é o parâmetro mais utilizado para avaliar o grau de acidificação.

A seguinte expressão foi utilizada para calcular o grau de acidificação dos reactores acidogénicos (R1 e R2):

$$Grau_acidificação(\%) = \frac{CQO_{filtrado} \cdot AOV_{saida}}{CQO_{filtrado_entrada}} \times 100\% \quad (5.1)$$

Onde:

$CQO_{filtrado\ entrada} = [CQO] \text{ alimentado aos reactores (mg CQO/L)}$

$CQO_{filtrado} AOV_{saida} = \text{somatório da [CQO] equivalente de cada AOV analisado à saída dos reactores (mg CQO/L), tendo por base os factores de conversão apresentados na tabela 5.2.}$

Tabela 5.2 – Factores de conversão para AOVs (Oktem, 2006).

AOV	Carbono (%)	CQO equivalente
Ácido acético	40,00	1,066
Ácido propiónico	48,65	1,512
Ácido butírico	54,55	1,816
Ácido valérico	58,82	2,036
Ácido capróico	62,07	2,204

No gráfico da figura 5.2 estão representadas as evoluções temporais do grau de acidificação e dos ácidos orgânicos voláteis, bem como das condições de operação impostas, nomeadamente o pH do efluente acidificado e a carga orgânica aplicada. Também é apresentado o valor da CQO solúvel do efluente acidificado de forma a se poder identificar o estado estacionário para cada condição operatória.

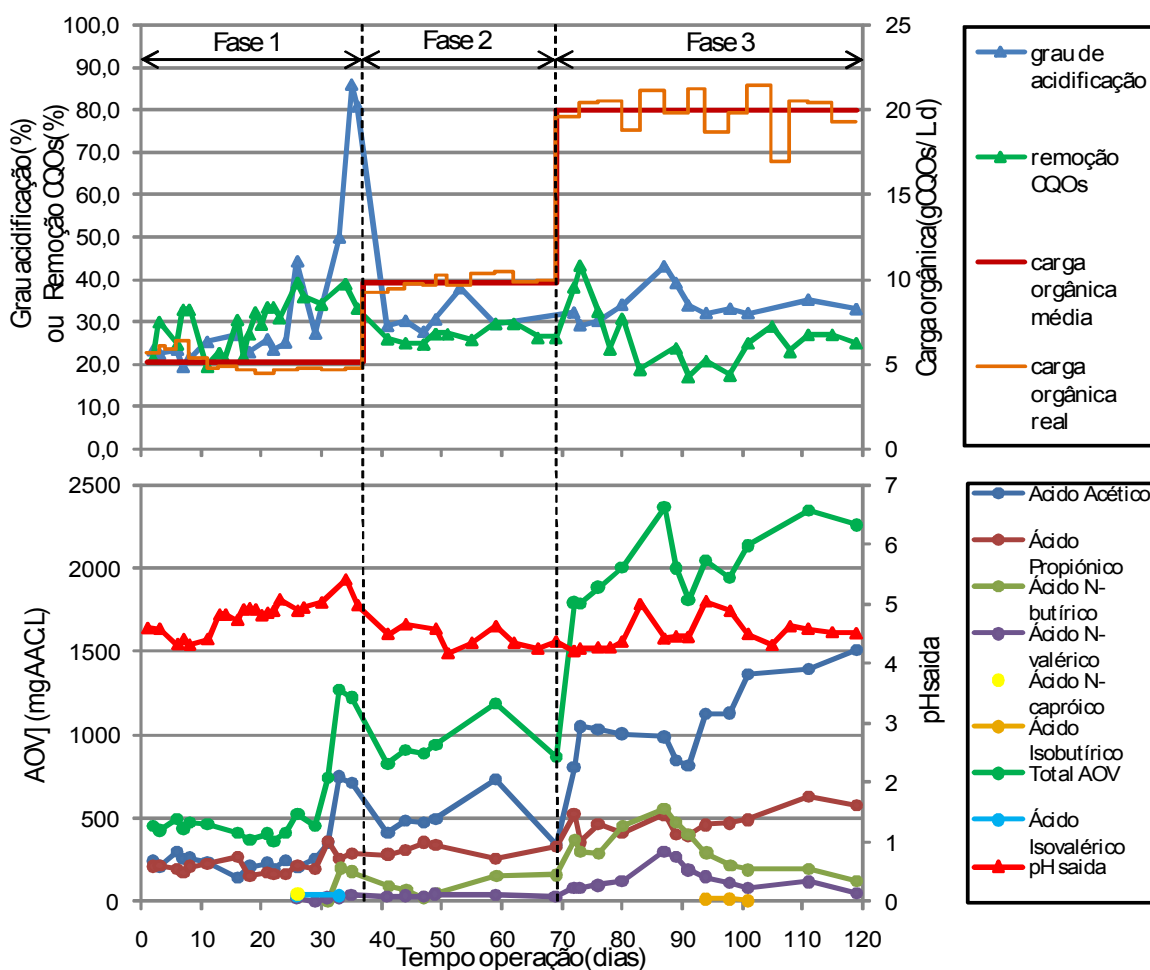


Figura 5.2 – Evolução do grau de acidificação ao longo do tempo de operação; Evolução dos diversos AOVs e do pH ao longo do tempo de operação (R1).

Pela análise do gráfico da figura 5.2 verifica-se que o grau de acidificação ao longo dos 120 dias de operação está compreendido entre os 20% e 85%. Durante a primeira carga até ao 25º dia o grau de acidificação permaneceu entre 20% e 25%, e a partir desse dia verificou-se um aumento acentuado até à mudança de carga atingindo um máximo de 85%. Este aumento acentuado pode estar relacionado com a avaria do termostato no dia 26, o que provocou uma diminuição da temperatura de 36°C para 15°C. Para além disso houve ainda a realização de uma purga com azoto no 25º dia de operação, dado ter havido o entupimento de um tubo. Este facto provocou um aumento de pressão no interior do reactor que fez subir o nível dentro do mesmo. O equilíbrio só foi restabelecido com a abertura da saída da linha do biogás para a atmosfera, tendo sido realizada de seguida a purga com azoto de forma a eliminar o O₂ proveniente do ar. Após a

aplicação da segunda carga orgânica verificou-se uma descida brusca do grau de acidificação que passou de 85% para cerca de 30%. A partir do 40º dia o grau de acidificação não variou muito até ao final da operação do reactor, que mesmo com a mudança de carga 10 g CQOs/L.d para 20 g CQOs/L.d permaneceu entre os 30% e os 40%.

No que diz respeito à composição dos produtos metabólicos da acidificação, podemos verificar que durante todo o período de operação foram detectados 7 tipos de ácidos orgânicos voláteis, onde se destaca o ácido acético como o AOV presente em maior quantidade no efluente acidificado, seguindo-se o ácido propiónico, n-butírico e n-valérico por ordem decrescente de representatividade. Os ácidos isobutírico, isovalérico e n-capróico apresentam valores inferiores a 50 mg AAC/L. Durante os primeiros 37 dias (correspondentes à aplicação da primeira carga) é onde se regista a detecção de maior número de AOVs, sendo também a única fase em que o ácido propiónico atinge valores da mesma ordem de grandeza ou superiores ao ácido acético. Neste período de tempo o biogás produzido apresentava uma percentagem de metano elevada (cerca de 70%) favorecido também por um pH que rondou os 5, enquanto no restante período de operação foi sempre inferior a 5. O ácido n-capróico só foi detectado no 26º dia, bem como o ácido isovalérico que só foi detectado do 26º ao 33º dia, correspondendo também este período de operação ao aparecimento dos ácidos n-valérico e n-butírico que a partir daí estiveram sempre presentes. Durante o período de operação, e com a mudança das condições aplicadas ao reactor, verifica-se um aumento gradual na produção de AOVs, com o aumento de carga orgânica, sendo esse aumento mais acentuado quando se aplica a última carga (as bactérias acidogénicas passam a ter uma maior quantidade de substrato disponível, aumentando dessa forma o teor dos produtos metabolizados). É visível que após a aplicação da carga orgânica mais elevada, a razão entre os ácidos de cadeia mais longa e o acético aumentava, tal como referido por Marchaim e Krause (1993). Após uma primeira fase (dia 70→ 91), verifica-se que há uma diminuição das concentrações dos ácidos voláteis de cadeia longa (n-butírico e n-valérico) e o correspondente aumento da concentração de ácido acético.

Produção e composição do biogás

A produção diária do biogás é expressa em ml/dia (figura 5.3), em que o volume produzido foi contabilizado através do sistema já descrito anteriormente onde a água contida numa ampola é deslocada pelo gás produzido após a passagem deste por um borbulhador. As percentagens de CH₄ e CO₂ foram obtidas pela leitura no cromatógrafo gasoso (figura 5.3).

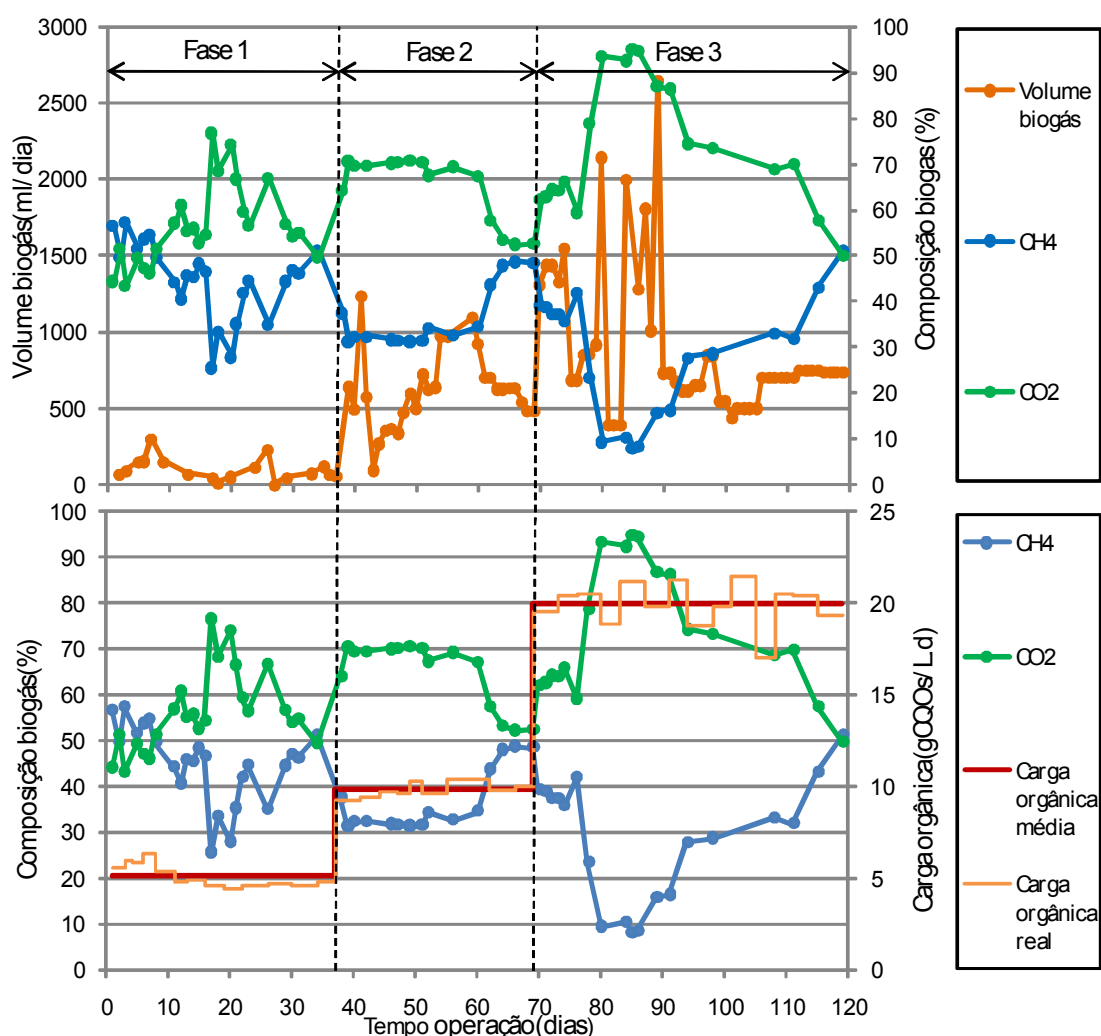


Figura 5.3 – Evolução da produção de biogás (ml/dia) durante o período de operação; Evolução da composição do biogás (%) durante o período de operação (R1).

Em termos de produção de biogás durante os primeiros 37 dias de operação, correspondentes à primeira fase experimental, verifica-se através da análise do gráfico da figura 5.3 que os valores são relativamente baixos quando comparados com as fases 2 e 3. Os valores obtidos na Fase 1 estão compreendidos entre 0 –

300 ml/dia, em que valor de 0 ml/dia obtido no dia 27 foi causado pela avaria do termostato no dia 26, o que provocou uma diminuição da temperatura de 36°C para 15°C e consequentemente uma perturbação na actividade bacteriana evidenciada pela não produção de biogás no dia 27. Nos dias seguintes houve um aumento gradual de produção de biogás. Verifica-se que sempre que se muda de condições experimentais através de aumentos na carga orgânica aplicada ao reactor há um aumento brusco na produção de biogás. Na primeira mudança correspondente à transição da 1ª para a 2ª fase, a produção de biogás passa de cerca de 100 ml/dia para cerca de 500 ml/dia enquanto da 2ª para a 3ª fase passa dos 500 ml/dia para 1400 ml/dia. Estes aumentos acentuados nos níveis de biogás produzidos são justificados pelo aumento do metabolismo das bactérias acidogénicas provocado pelo aumento de carga orgânica aplicado ao reactor, verificando-se posteriormente uma diminuição gradual até se atingir o estado estacionário.

Relativamente à composição do biogás verificou-se sempre a presença de CH₄ ao longo de todo o período de operação. Este facto já tinha ocorrido em estudos anteriores. Soares (2008) fez uma tentativa de evitar a produção de metano submetendo o reactor a condições de pH menos favoráveis ao desenvolvimento da actividade das bactérias metanogénicas (pH=4, sem adição de alcalinidade), verificando-se apenas a ausência temporária de metano, voltando a produção de metano a ser retomada após a restauração das condições normais de operação. Uma justificativa para este acontecimento pode estar relacionada com o desenvolvimento de bactérias metanogénicas hidrogenofílicas que produzem metano a partir da redução de H₂ e CO₂. De acordo com Alexiou (1998) este grupo é mais tolerante a condições adversas que as bactérias metanogénicas acetoclásticas e apresentam tempos de duplicação duas vezes inferiores. Estudos realizados por Attal et al. (1986) verificaram a existência de actividade metanogénica para valores baixos de pH, o que parece contrariar o facto de estas bactérias serem altamente sensíveis a variações de pH, atribuindo estes autores esse facto à possível existência de micro ambientes, nos quais o pH seria superior ao medido no meio. A presença de enchimento móvel no interior do reactor utilizado neste estudo, poderá ter contribuído para a criação de micro

ambientes onde as bactérias hidrogenofílicas estariam protegidas das condições adversas do meio, possibilitando assim o seu desenvolvimento.

5.1.2 Análise dos resultados de estado estacionário para os reactores acidogénicos R1 e R2

Com os valores de estado estacionário é possível calcular a percentagem de remoção de matéria orgânica expressa como CQO solúvel, estabelecer correlações entre as variáveis operacionais estudadas, e avaliar a capacidade dos reactores no tratamento de efluentes constituídos por uma grande variedade de compostos, em particular o efluente proveniente da prensagem de borras de café.

A tabela 5.3 apresenta o desempenho dos reactores acidogénicos para cada estado estacionário obtido. Os valores apresentados representam uma média dos resultados experimentais que melhor representam a obtenção de estado estacionário para cada uma das fases experimentais.

Tabela 5.3 – Desempenho dos reactores acidogénicos R1 e R2 para cada estado estacionário.

Reactor*	Fase 1		Fase 2	Fase 3
	R1	R2	R1	R1
Carga Orgânica (g CQOs /L.d)	5,07 ±0,68	11,40 ±1,62	9,84 ±0,45	20,04 ±0,42
TRH (dia)	0,48 ±0,06	0,53 ±0,16	0,51 ±0,11	0,54 ±0,08
Remoção CQOs (%)	36,32 ±2,76	14,01 ±2,32	27,45 ±1,72	26,00 ±2,10
CQOs efluente (g CQOs/L)	1,51 ±0,08	4,90 ±0,80	3,63 ±0,04	7,49 ±0,07
pH	5,0 – 5,4	4,3 – 4,4	4,2 – 4,6	4,5 – 4,6
[AOV] _{total} (mg AAC/L)	437,35 ±46,96	646,30 ±8,34	957,30 ±130,078	2246,95 ±106,52
[Ac.Acético] (mg AAC/L)	228,48 ±37,54	446,6 ±8,20	504,55 ±140,52	1421,76 ±74,55
[Ac.propiónico] (mg AAC/L)	201,10 ±30,63	79,65 ±24,54	321,80 ±35,36	568,90 ±69,76
[Ac.N-butírico] (mg AAC/L)	n.d.	120,05 ±7,99	94,12 ±38,34	172,16 ±42,92
[Ac.N-valérico] (mg AAC/L)	8,95 ±11,30	n.d	36,84 ±7,14	82,03 ±35,73
Grau Acidificação (%)	40,40 ±11,73	14,90 ±0,40	30,80 ±3,63	33,40 ±1,62
Volume Biogás (ml/dia)	81,33 ±34,67	787,50 ±46,56	504,33 ±31,75	743,00 ±9,53
CH ₄ (%)	48,20 ±2,68	n.d.	48,40 ±0,43	47,15 ±5,58
CO ₂ (%)	51,80 ±2,81	100	51,60 ±0,45	52,85 ±5,37

n.d. – não detectado

*R1 (mesofílico); R2 (termofílico)

Em seguida são apresentados os resultados de forma gráfica de estado estacionário para os reactores acidogénicos R1 e R2. São também apresentados alguns resultados obtidos por Soares (2008), representados como R1' e R2', possibilitando desta forma a comparação de alguns valores tendo em conta que se tratava do mesmo tipo de reactores, a operar em condições semelhantes.

A figura 5.4 apresenta a percentagem de remoção da CQO solúvel correspondente ao valor médio de estado estacionário para as diferentes cargas aplicadas aos reactores R1, R1' (mesofílicos - 36°C) e R2, R2' (termofílicos - 55°C) tendo todos os reactores operado com um TRH de cerca de 0,5 dia.

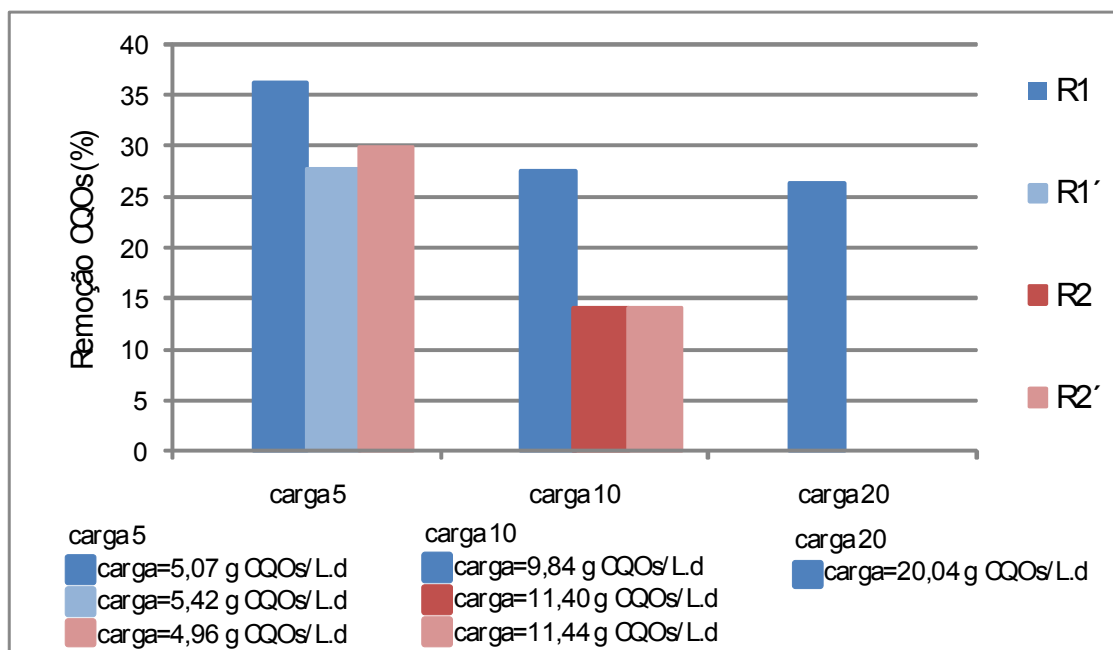


Figura 5.4 – Remoção da CQO solúvel médio para as diferentes cargas aplicadas.

Pela análise da figura 5.4 a remoção da CQOs apresenta um mínimo de 14% correspondente ao reactor R2 e R2' para a carga 10, e um máximo de 36% para o R1 na carga mais baixa (carga 5). Para os reactores termofílicos (R2 e R2'), é visível uma diminuição acentuada na remoção de CQOs provocada pelo aumento de carga orgânica (carga 5→carga 10) passando de 30% para 14%. Os reactores mesofílicos (R1 e R1') não são tão afectados pelo aumento de carga, tendo-se verificado para o reactor R1 uma diminuição de 36 (carga 5) para 27% (carga 10), e quando se aplica o último aumento de carga (carga 10→ carga 20) a diminuição é de apenas 1%.

Relativamente ao desempenho do processo de acidificação anaeróbio, dependente de diversos parâmetros operacionais (temperatura, pH, TRH e carga orgânica aplicada), é apresentada na figura 5.5 a influência da temperatura e da carga orgânica que foram os parâmetros estudados ao longo deste trabalho.

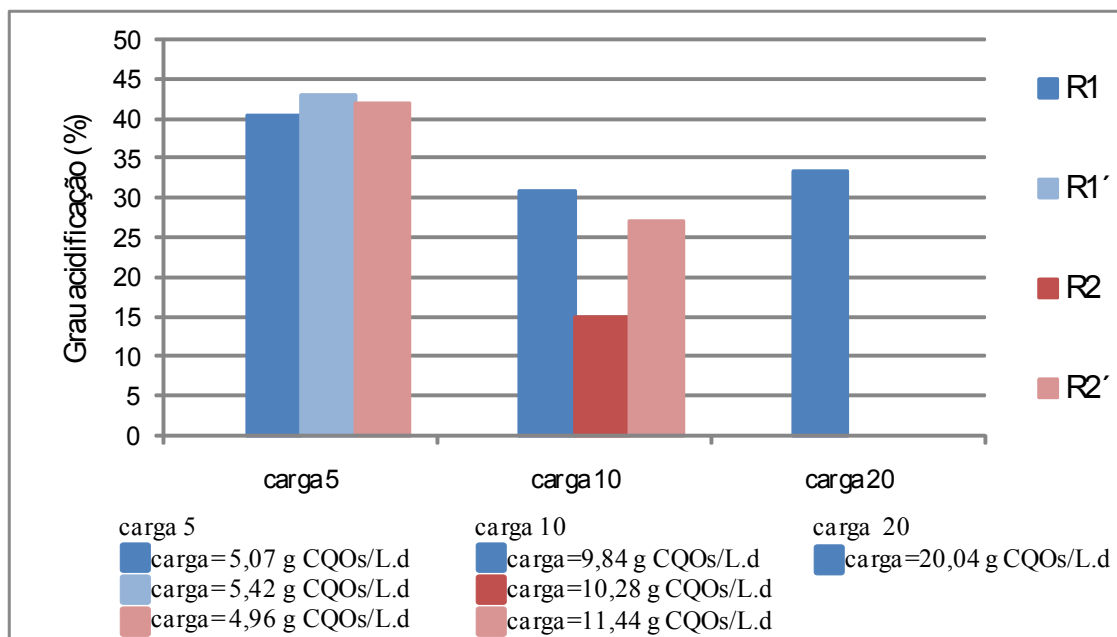


Figura 5.5 – Grau de Acidificação médio para as diferentes cargas aplicadas.

Pela análise da figura 5.5 verificasse que o aumento de carga orgânica (carga 5→ carga 10) provoca uma diminuição no grau de acidificação. Essa diminuição é mais evidente nos reactores à temperatura termofílica, situando-se nos 15% em relação ao R2' e 27% em relação ao R2. Nos reactores à temperatura mesofílica observa-se uma diminuição de cerca de 10% em relação ao R1. No entanto verifica-se que para o reactor R1 com um segundo aumento de carga orgânica (carga 10→carga 20) o grau de acidificação passa de 31% para 33% contrariando a tendência de diminuição verificada para o caso anterior.

Comparando os valores da remoção da CQOs e do grau de acidificação verificasse que no caso do R1 para a carga 5, apesar de apresentar valores de remoção da CQOs cerca de 10% superiores ao R1', em termos de acidificação apresenta um valor inferior (2%), o que indica que neste caso a remoção de CQOs promove a formação de outro tipo de compostos intermediários como é o caso de álcoois, que não foram determinados. Comparando também os valores do R1 (mesofílico) com o R2 e R2' (termofílicos) para a carga 5 e 10, verifica-se o mesmo tipo de acontecimento, uma vez que apesar de a remoção de CQOs ser cerca de 6% superior na carga 5 em relação ao R2' e de 13% superior em relação ao R2, não é evidenciada essa superioridade em termos de produção de AOVs, visto que na carga 5 o R2' apresenta um grau de acidificação 2% superior ao R1.

Na carga 10 o reactor R1 apresenta valores de remoção de CQOs superiores ao R2' e R2 a rondar os 14% enquanto o grau de acidificação para os reactores termofílicos é muito diferente, 15% para o R2 e 27% para o R2', o que denota uma grande diferença nos produtos formados.

A distribuição dos produtos de acidificação (AOVs) presentes no efluente acidificado em função da carga orgânica e da temperatura a qual operaram os reactores acidogénicos é apresentada na figura 5.6.

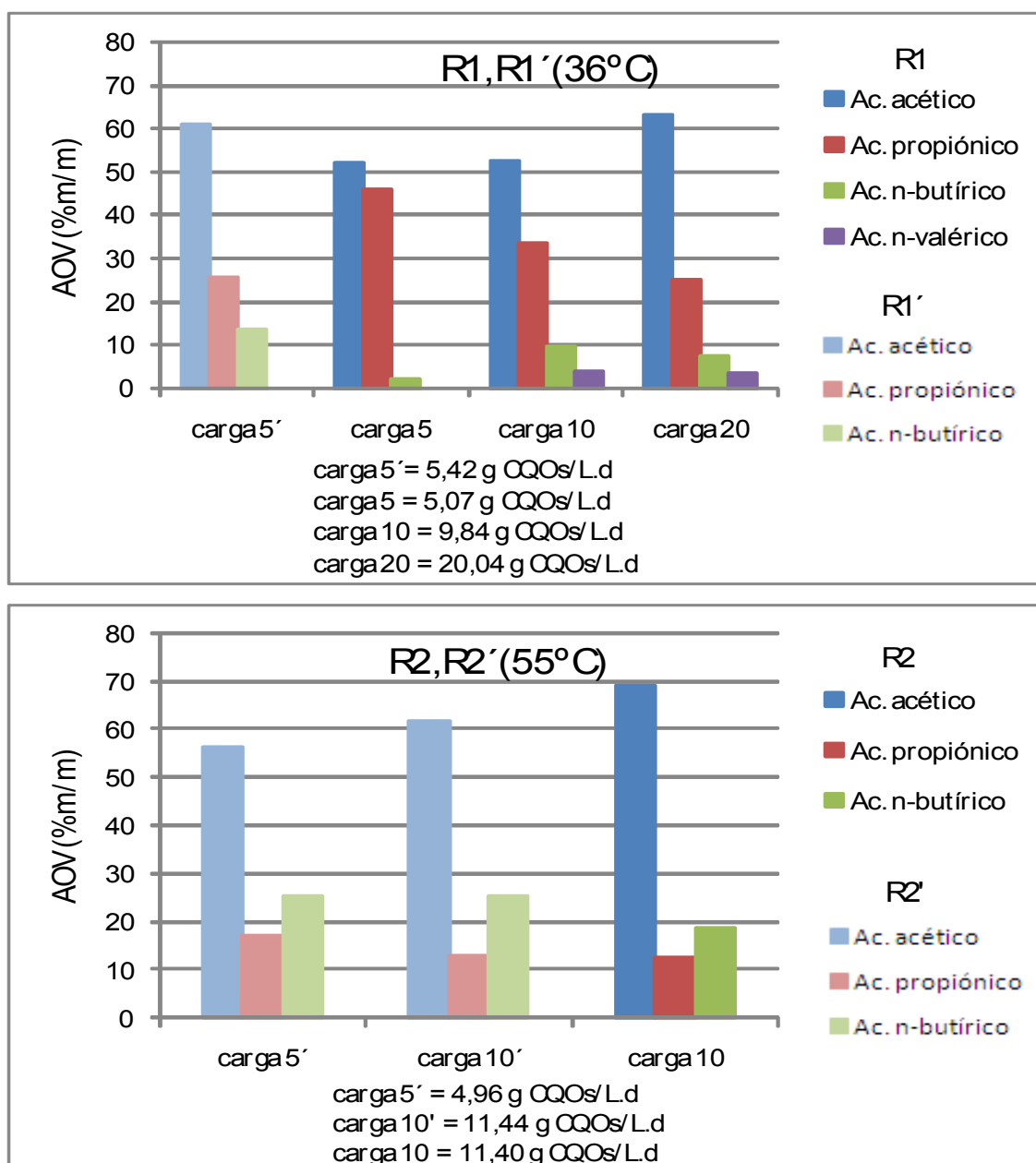


Figura 5.6 – Distribuição dos AOVs em função da carga orgânica aplicada e da temperatura.

Como se pode verificar pela análise da figura 5.6 os reactores que operaram a 36°C (R1 e R1') apresentam como AOVs, o ácido acético, propiónico, n-butírico e n-valérico. O ácido acético é o AOV mais expressivo em termos de composição (52 a 63% m/m), seguido do ácido propiónico (25 a 46% m/m), n-butírico (2 a 14% m/m) e do n-valérico (0 a 4% m/m). Na carga orgânica mais baixa (carga 5) quer para o R1 como para o R1' não se verifica a presença do ácido n-valérico. Com o aumento de carga orgânica (carga 5→carga 10) verifica-se o aparecimento do ácido n-valérico (4% m/m) e um aumento de 8% do ácido n-butírico em detrimento do ácido propiónico que é reduzida em 12%. O mesmo acontece no último aumento de carga orgânica (carga 10→carga 20), em que se verificou um decréscimo de 9 % na percentagem do ácido propiónico e uma ligeira diminuição de 2% do ácido n-butírico, e se observou um crescimento de 10% em ácido acético atingindo o seu valor máximo (63% m/m).

A 55°C, apenas se encontram presentes o ácido acético, propiónico e n-butírico no efluente acidificado. O ácido acético é também neste caso o ácido mais significativo em termos de composição (57 a 69% m/m), no entanto o segundo ácido mais significativo passa a ser o ácido n-butírico (19 a 25% m/m) em detrimento do ácido propiónico (12 a 17% m/m). Com o aumento da carga orgânica (carga 5' →carga10',10) verifica-se um aumento na composição mássica em ácido acético de 5% em relação ao R2' e 12% em relação ao R2, associado a uma ligeira diminuição de 4% e 5% respectivamente na representatividade do ácido propiónico, e uma descida de 6% em ácido butírico em relação ao R2.

Em conclusão, verifica-se que o aumento de temperatura (36→55°C) favorece a presença de ácido acético e butírico, ou seja a acidificação a temperaturas termofílicas não leva a acumulação de ácido propiónico, mas sim favorece a produção de ácido butírico. Não se observa também a produção do ácido n-valérico na gama termofílica. Os aumentos de carga orgânica aplicados tanto para os reactores termofílicos, como mesofílicos, traduzem-se num acréscimo da percentagem mássica de ácido acético e num decréscimo da percentagem de ácido propiónico no efluente acidificado.

5.2 Resultados experimentais do reactor metanogénico

Para além do estudo de acidificação como pré-tratamento aplicado ao efluente proveniente da prensagem das borras de café, foi também estudado o desempenho de um reactor metanogénico (R3) de leito móvel MBBR aplicado ao mesmo efluente. O reactor foi operado durante cerca de 90 dias a uma temperatura mesofílica (36°C), sem controlo contínuo de pH e segundo um perfil crescente de cargas orgânicas de acordo com o TRH e a concentração de substrato apresentados na tabela 4.4. Na tabela 5.4 são apresentadas as condições operacionais aplicadas ao reactor.

Tabela 5.4 – Parâmetros operacionais aplicados ao reactor metanogénico R3.

R3	Fase 1	Fase 2
Período de operação (dias)	14-42	43-92
Carga orgânica (gCQOs/L.d)	1,01 ±0,05	1,93 ±0,09
Caudal (L/d)	5,08 ±0,23	5,01 ±0,18
TRH (dia)	0,51 ±0,09	0,50 ±0,07
Alimentação (gCQOs/L)	0,51 ±0,02	0,97 ±0,04

Como se pode verificar pela tabela 5.4, a fase 1 teve início no 14ºdia. Os primeiros 14 dias de operação corresponderam à fase de arranque do reactor e adaptação da biomassa.

5.2.1 Análise dos resultados de evolução

Os parâmetros que de seguida são analisados graficamente correspondem a CQO solúvel à entrada e saída do reactor, bem como à sua percentagem de

remoção, à carga orgânica aplicada, ao pH, ao grau de metanização, aos AOVs produzidos e ao biogás obtido.

Remoção de CQO solúvel

A figura 5.7 apresenta a percentagem de remoção da CQO solúvel, bem como a variação da CQO solúvel à entrada e saída do reactor ao longo do tempo de operação, permitindo desta forma identificar o estado estacionário para cada fase.

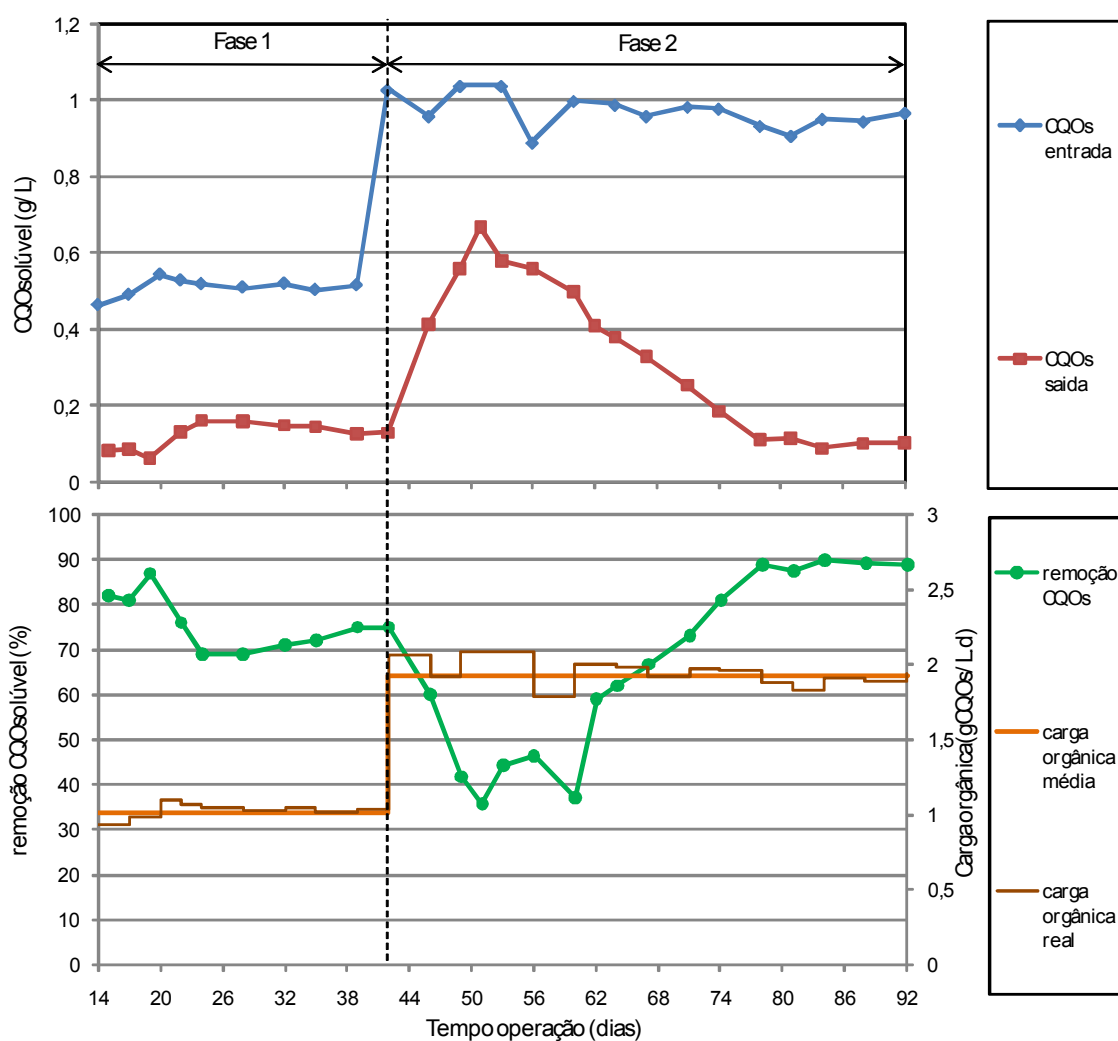


Figura 5.7 – Variação da CQO solúvel à entrada e saída do reactor ao longo do tempo de operação; Variação da percentagem de remoção da CQO solúvel e da carga orgânica aplicada ao reactor ao longo do tempo de operação.

Durante os 78 dias de operação normal (14↔92) foram aplicadas 2 cargas de uma forma crescente (Fases 1 e 2), traduzidas pelo aumento da CQO solúvel da alimentação. Pela análise do gráfico da figura 5.7 é possível verificar que a resposta do reactor em termos de estabilização da CQO solúvel à saída do reactor foi mais rápida na primeira fase (carga=1,01 g CQOs/L). Na segunda fase (carga=1,93 g CQOs/L.d), apesar de haver também alguma oscilação na CQOs alimentada, só cerca de 40 dias após o início da aplicação desta carga é que os valores da CQOs de saída do reactor começaram a estabilizar atingindo valores a rondar 0,1 g CQOs/L (valores semelhantes aos obtidos na primeira fase).

Em relação à remoção da CQO solúvel, as percentagens de remoção estiveram sempre compreendidas entre os 35 e 90%. Na fase 1 verifica-se durante os primeiros dias uma percentagem de remoção entre os 80-87%, associado a uma CQOs alimentada inferior ao valor médio dessa fase. Posteriormente a remoção diminuiu e estabiliza em valores a rondar os 75%. Após o incremento de carga orgânica aplicada (fase1→fase 2) observa-se uma diminuição acentuada na percentagem de remoção atingindo um mínimo de 35%, valor este que pode estar relacionado com problemas operacionais no funcionamento do termostato (diminuição na temperatura de 36°C para 20°C) que ocorreram no 44º e 46º dia que naturalmente podem ter perturbado o sistema. A partir do 60º dia de operação a percentagem remoção da CQO solúvel foi aumentando de forma gradual estabilizando em valores a rondar os 90%.

Grau de metanização

Na figura 5.8 está representado o grau de metanização ao longo do período de operação, que quantifica a produção de metano no biogás em função da quantidade de substrato que foi removido no decorrer do processo de digestão anaeróbia. São também apresentados os resultados de evolução da composição e volume de biogás produzido, da remoção de CQO solúvel e do pH, de forma a poder verificar as relações entre as variáveis operacionais estudadas.

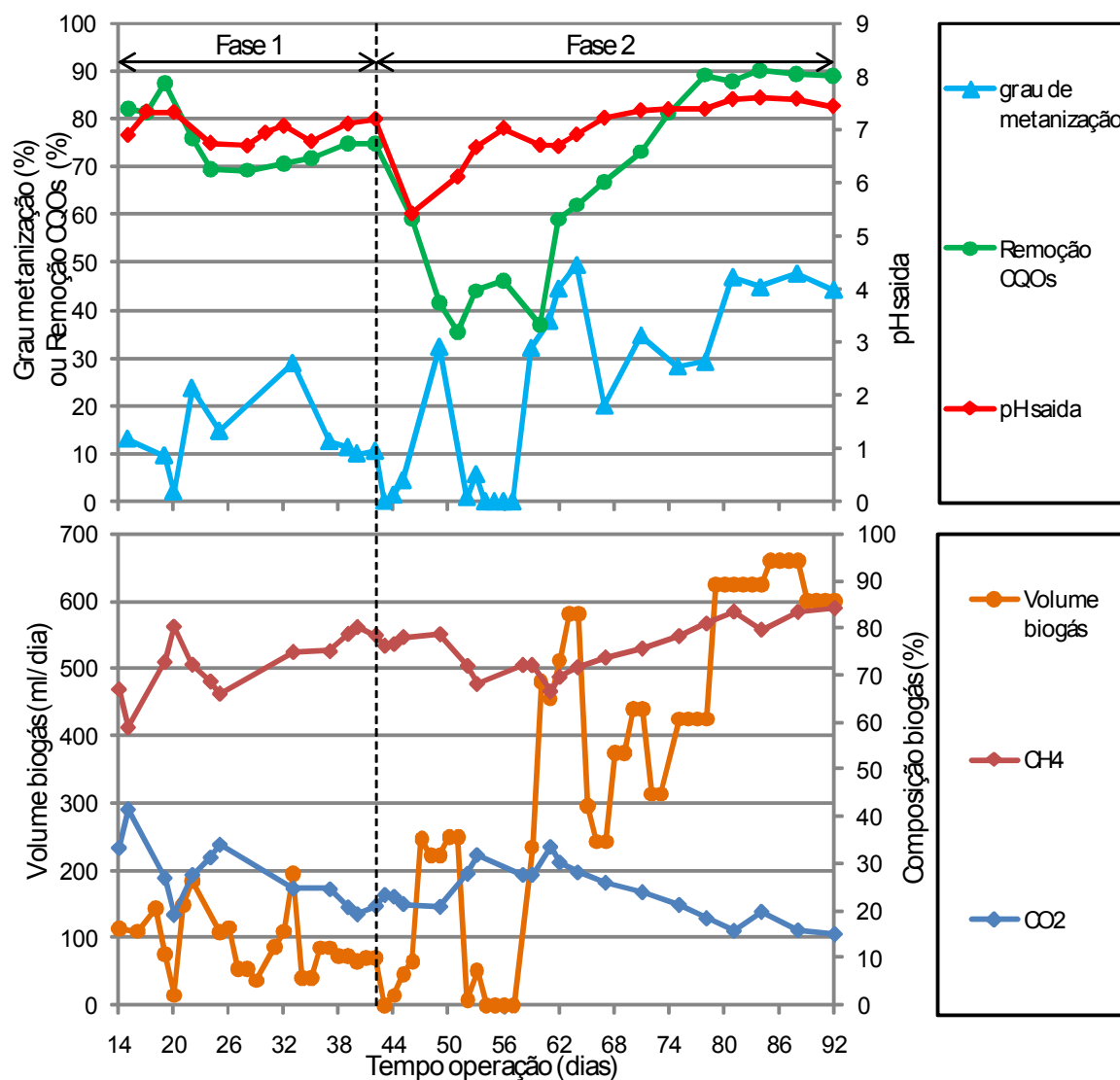


Figura 5.8 – Evolução do grau de metanização, pH e remoção de CQOs ao longo do tempo de operação; Evolução da produção e composição do biogás ao longo do tempo de operação.

Pela análise do gráfico da figura 5.8 observa-se que ao longo de todo o período de operação o reactor apresentou um grau de metanização compreendido entre os 0% e os 49%. No decorrer da fase 1 é atingido um mínimo de 2% e um máximo de 29% no grau de metanização correspondente ao 20º dia e 33º dia respectivamente. Estes valores estão directamente relacionados com a produção de biogás que no 20º dia apesar de apresentar um teor elevado de metano (80%), o volume de biogás produzido foi reduzido (15 ml/dia). O pico de volume de biogás produzido na fase 1 atingiu os 200 ml no 33º dia correspondendo este dia ao máximo de metanização observado nesta fase. Do 37º dia ao 42º dia o grau de

metanização estabilizou entre os 10% e 12%, assim como os níveis diários de biogás produzido neste período de tempo rodaram os 75ml. No dia seguinte ao aumento da carga orgânica (fase1→fase2) não foi produzido biogás e verificou-se uma descida acentuada no pH (pH=5,4) para valores inibitórios da actividade das bactérias metanogénicas, que de acordo com Lema e Mendez (1988) têm um crescimento óptimo na faixa de pH entre os 6,6 e os 7,4. Segundo Winkler (1981), se o pH descer para níveis inferiores a 6,2 a produção de metano reduz-se drasticamente e o processo pode ser interrompido. O pH foi então controlado através da adição de alcalinidade, não se verificando mais este tipo de acontecimento até ao final do período de operação do reactor. A partir desse dia verificou-se um crescimento na produção de biogás, e consequentemente um aumento do grau de acidificação. No entanto, entre o 51ºdia e o 57ºdia a produção de biogás voltou a atingir valores muito baixos, não se verificando mesmo nenhum biogás produzido entre o 54ºdia e o 57ºdia. Presume-se que este acontecimento resulte do choque de carga e dos valores de pH que até ao 53ºdia se encontraram abaixo de 6,7 mesmo com adição de alcalinidade na alimentação correspondendo também ao período em que a percentagem de remoção da CQOs foi mais baixa. Posteriormente verificou-se um aumento geral no rendimento do reactor, através do aumento da quantidade de CQOs removido, do volume de biogás produzido e do seu teor em metano. Como consequência destes aumentos é possível verificar um crescimento acentuado na percentagem do grau de metanização que atingiu um máximo de 49% no 62º dia, estabilizando mais tarde em valores a rondar os 45%.

Ácidos orgânicos voláteis

Na figura 5.9 estão representados os diversos AOVs detectados durante o período de operação do reactor metanogénico.

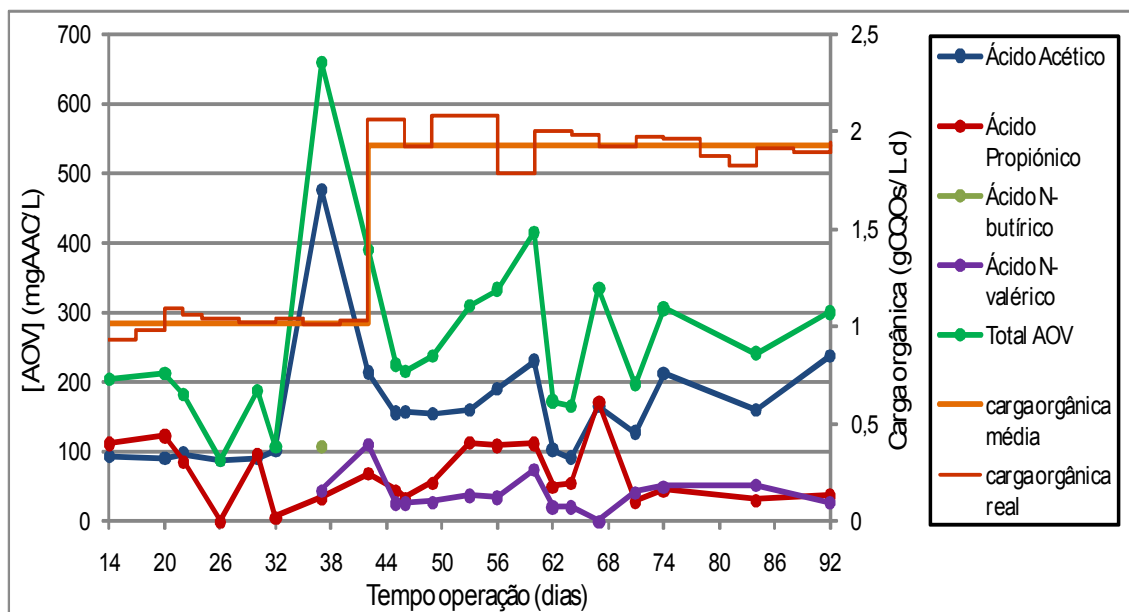


Figura 5.9 – Evolução dos diversos AOVs ao longo do tempo de operação (R3).

Ao longo do período de operação deste reactor foram detectados 4 tipos de ácidos orgânicos voláteis, sendo o ácido acético o AOV mais representado, seguindo-se o ácido propiônico, n-valérico e n-butírico por ordem decrescente de representatividade. Só o ácido acético e o propiônico tiveram presentes durante todo o período de operação. O ácido n-butírico apareceu somente no 37º dia correspondendo ao dia em que se verificou um pico na produção de AOVs, antes do aumento de carga orgânica. Ao longo da segunda fase é visível (comparando com a figura 5.8) que as variações na produção dos AOVs detectados estão inversamente relacionadas com o volume de biogás produzido e com o grau de metanização estabilizando todos os parâmetros na fase final de operação do reactor. Em geral também se observa que quando a produção de ácido acético aumenta, a produção de ácido propiônico e n-valérico diminui.

5.2.2 Análise dos resultados de estado estacionário para o reactor metanogénico

A tabela 5.5 apresenta o desempenho do reactor metanogénico para cada estado estacionário obtido. Os valores apresentados representam uma média dos resultados experimentais que melhor representam a obtenção de estado

estacionário para cada uma das fases experimentais, o que permite estabelecer correlações entre as variáveis operacionais estudadas.

Tabela 5.5 – Desempenho do reactor metanogénico para cada estado estacionário.

R3	Fase 1	Fase 2
Carga Orgânica (g CQOs /L.d)	1,01 ±0,05	1,93 ±0,09
TRH (dia)	0,51 ±0,09	0,50 ±0,07
Remoção CQOs (%)	73,83 ±1,77	88,96 ±0,87
CQOs efluente (g CQOs/L)	0,14 ±0,01	0,10 ±0,01
pH	6,7 – 7,1	7,0 – 8,2
Grau metanização (%)	11,16 ±1,11	45,97 ±1,64
Volume Biogás (ml/dia)	75,43 ±7,70	630,00 ±32,07
CH ₄ (%)	77,40 ±2,32	82,20 ±1,92
CO ₂ (%)	22,60 ±2,43	17,80 ±2,02
[AOV]total (mgAAC/L)	385,07 ±275,49	282,23 ±35,39
[Ac.Acético] (mgAAC/L)	263,29 ±191,75	203,21 ±39,05
[Ac.propiónico] (mgAAC/L)	35,50 ±31,18	36,70 ±7,29
[Ac.N-valérico] (mgAAC/L)	76,36 ±45,93	42,32 ±14,06

De forma a se poder visualizar melhor os resultados de estado estacionário para cada uma das duas fases experimentais estudadas, na figura 5.10 estão representados graficamente esses resultados.

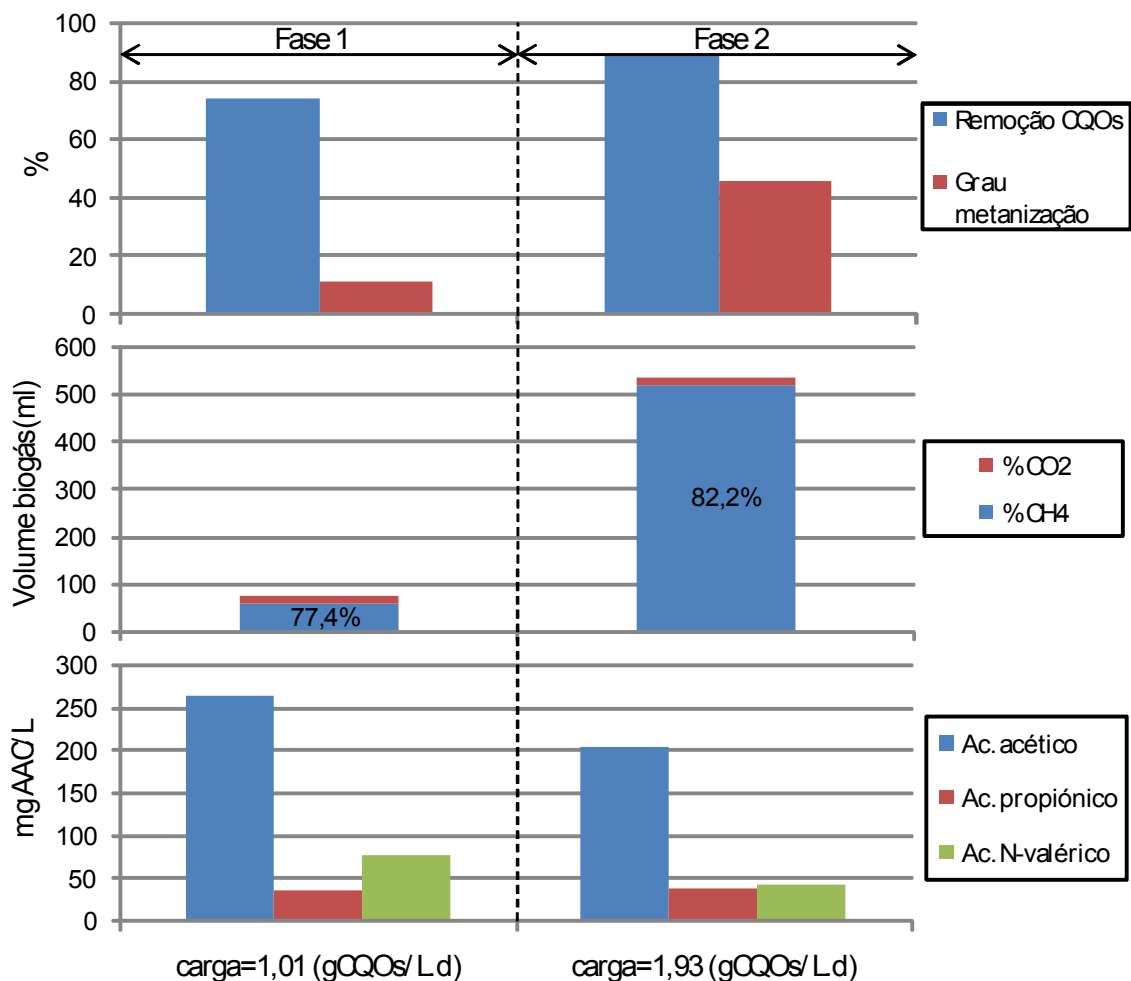


Figura 5.10 – Valor médio de estado estacionário para os diversos parâmetros analisados nas duas fases experimentais.

É notório pela análise da figura 5.10 um aumento do rendimento do reactor metanogénico com o aumento de carga orgânica aplicada (fase1 → fase2). Como foi verificado pela análise dos resultados de evolução temporal (figura 5.8), apesar da fase 2 se ter prolongado mais cerca de 20 dias que a fase 1 para se atingir o estado estacionário os resultados finais foram relativamente melhores. O grau de remoção na fase 2 atingiu os 89%, mais 15% que na fase 1, verificando-se mesmo que embora a carga orgânica aplicada na segunda fase seja praticamente o dobro da fase 1, a concentração em matéria orgânica do efluente é menor na fase 2 (fase1=0,14 g CQOs/L; fase2=0,10 g CQOs/L). Paralelamente o grau de metanização apresenta uma percentagem de 46% na fase 2, 35% superior à fase 1, em contraste com os níveis de concentração de ácidos orgânicos que na fase 2 apresenta um total de 282 mgAAC/L e na fase 1 de 385 mgAAC/L. Apenas o

ácido propiónico apresenta uma concentração semelhante em ambas as fases, enquanto o ácido acético e n-valérico na fase 1 exibem concentrações mais elevadas do que na fase 2.

6. Ensaio de biodegradabilidade aeróbia

Com o intuito de avaliar a possibilidade de aplicação da acidificação anaeróbia ou da digestão anaeróbia completa como pré-tratamentos do efluente resultante da prensagem das borras de café foram realizados ensaios de biodegradabilidade aeróbia aos efluentes obtidos pela operação dessas unidades laboratoriais.

Assim, de forma a se poder concluir da aplicabilidade destes pré-tratamentos como técnicas possíveis de melhoria da biodegradabilidade do efluente das borras, foram comparados os perfis de degradação aeróbia dos efluentes obtidos após o pré-tratamento com o efluente das borras sem tratamento. Para tal utilizou-se um método respirométrico usando o sistema OXITOP que fornece directamente a medida do oxigénio consumido pelos microrganismos durante a degradação da matéria orgânica presente nas amostras, através dos valores da diferença de pressão no interior dos frascos.

Na tabela 6.1 estão definidas as condições experimentais para os ensaios descontínuos de biodegradabilidade aeróbia, que tiveram 96 horas de duração.

Tabela 6.1 – Condições dos ensaios de biodegradabilidade aeróbia dos efluentes avaliados.

Designação do efluente*	Volume efluente (ml)	Volume total (efluente+inoculo+ nutrientes+água) (ml)	[CQOs] _{mistura} (g O ₂ /L)	Volume de ar disponível (ml)
1R1	50	75	1,01	435
2R1	50	75	2,42	435
3R1	50	75	4,99	435
1R3	50	75	0,09	435
2R3	50	75	0,07	435
Borras	50	75	3,38	435

*1R1, 2R1 e 3R1 representam a designação do efluente obtido para o estado estacionário do reactor R1 para as fases experimentais 1, 2 e 3; 1R3 e 2R3 representam a designação do efluente obtido para o estado estacionário do reactor R3 para as fases experimentais 1 e 2.

De forma a se poder afirmar que o valor máximo de variação de pressão ($|\Delta P|$) registado para os efluentes se deve exclusivamente ao consumo de todo o substrato disponível para biodegradação aeróbia, não havendo portanto possibilidade de existir limitações de oxigénio dentro dos frascos de incubação, estes foram abertos 2 vezes durante os ensaios para permitir a substituição do oxigénio consumido. As medições de variação de pressão foram posteriormente ajustadas aquando da abertura dos frascos de incubação devido à alteração da pressão no seu interior. Na figura 6.1 está representado graficamente como exemplo a variação de pressão registada ao longo tempo nos ensaios de biodegradabilidade aeróbia e o seu ajuste para o ensaio realizado com o efluente 3R1.

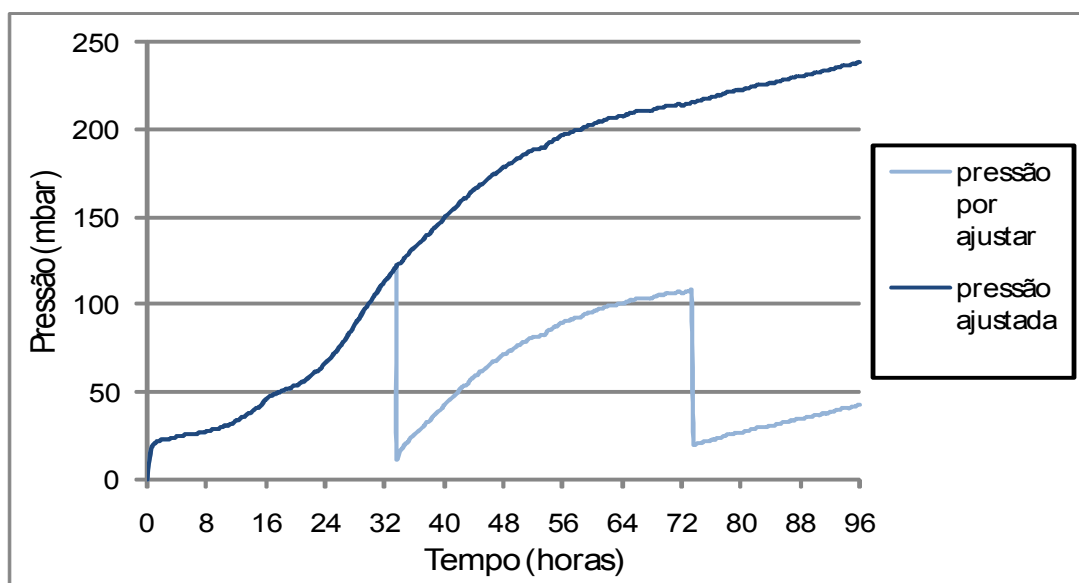


Figura 6.1 – Evolução do perfil de variação de pressão (e ajuste de pressão) no ensaio de biodegradabilidade aeróbia do efluente 3R1.

Os resultados experimentais dos testes de biodegradabilidade aeróbia foram analisados tendo como termo comparativo a variação de pressão máxima ($|\Delta P|_{\max}$) registada para o efluente das borras. A figura 6.1 apresenta o perfil de evolução da razão entre a $|\Delta P|$ do efluente das borras com o seu $|\Delta P|_{\max}$ registado ao longo da realização do ensaio.

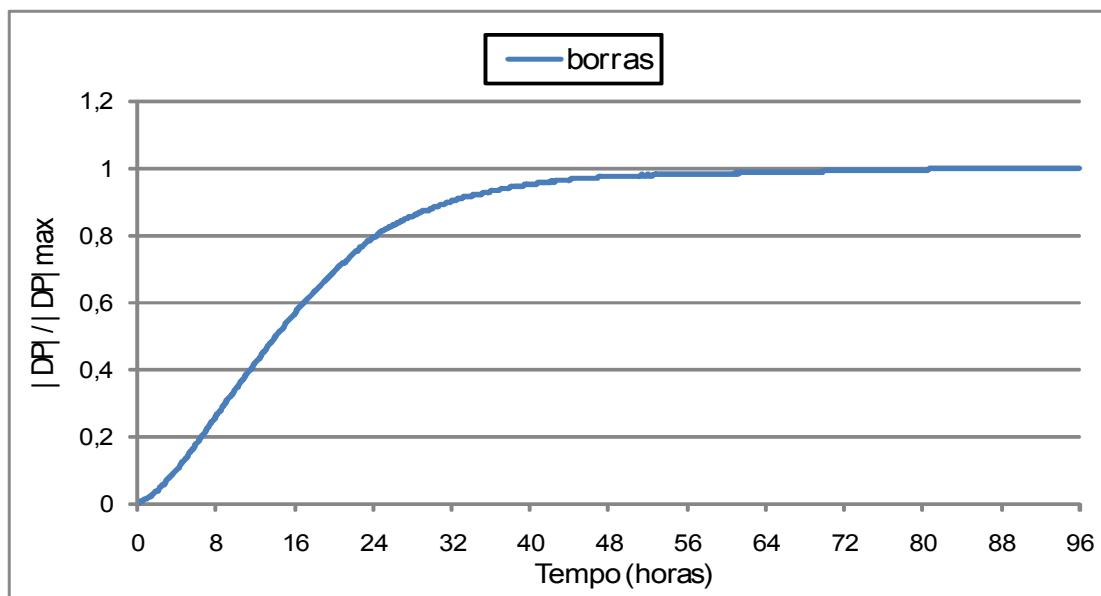


Figura 6.2 – Evolução do perfil de variação de pressão no ensaio de biodegradabilidade aeróbia do efluente das borras.

Pela análise da figura 6.2 é visível que o inóculo utilizado nos ensaios de biodegradabilidade mostrou estar adaptado ao efluente das borras tendo em conta que no início do ensaio não se verificou uma fase “lag”, típica de situações em que a biomassa não se encontra adaptada ao efluente.

Na figura 6.3 estão representados graficamente os perfis de variação de pressão de todos os ensaios realizados. Cada perfil representa a razão entre a evolução do $|\Delta P|$ de cada efluente, com o $|\Delta P|_{\max}$ registado para o efluente das borras.

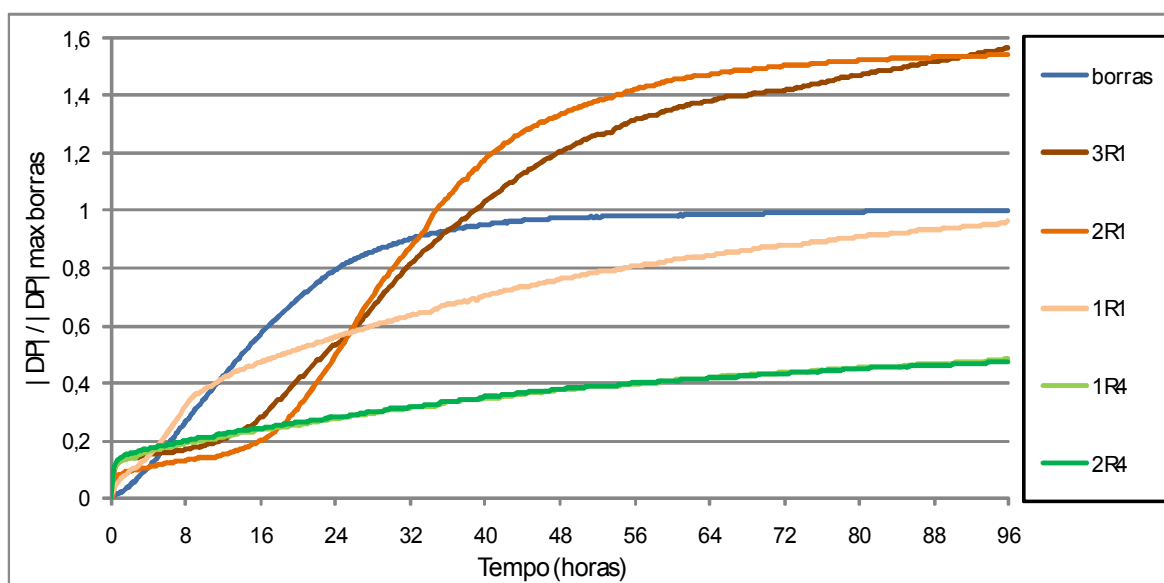


Figura 6.3 – Evolução do perfil de variação de pressão dos efluentes submetidos ao ensaio de biodegradabilidade aeróbia.

Comparando os perfis da variação de pressão é visível que nas primeiras horas todos os efluentes tratados consumiram mais oxigénio que o efluente borras, o que em termos globais indica que todos os efluentes sujeitos a um pré-tratamento anaeróbio, possuem um maior teor de matéria orgânica mais facilmente biodegradável aerobicamente que o efluente das borras sem pré-tratamento.

Na tabela 6.2 são apresentados os valores da razão $[CBO]_{96 \text{ horas}}/[CQOs]_{\text{mistura}}$, que permitem avaliar de forma comparativa a biodegradabilidades dos efluentes analisados com o efluente das borras. A $[CBO]_{96 \text{ horas}}$ foi calculada através da expressão 6.1 que traduz a relação entre a variação de pressão no interior do frasco (valor de pressão máxima registado pelo sensor de pressão acoplado ao frasco de incubação) e o teor de CBO (ao fim de 5 dias) (Reuschenbach e tal., 2003):

$$[CBO_5] = \frac{M(O_2)}{R \times T_{20}} \times \left(\frac{V_{total} - V_{liquido}}{V_{liquido}} + \alpha \times \frac{T_{20}}{T_0} \right) \times \Delta P(O_2) \quad (6.1)$$

Sendo: $[CBO_5]$ = teor de CBO_5 (g O_2 /L); $M(O_2)$ = 32 g/mol; R = 83,144 L.mbar/mol.K; T_0 = 273,15 K; T_{20} = 293,15 K (temperatura de incubação); V_{total} = 510 ml (volume total do frasco de incubação); $V_{liquido}$ = 75 ml (volume da mistura no frasco de incubação); α = 0,03103 (coeficiente de absorção de Bunsen); $\Delta P(O_2)$ = variação da pressão parcial do oxigénio (mbar) ao fim de 5 dias de incubação.

Tabela 6.2 – valores da razão $[CBO]_{96 \text{ horas}}/[CQOs]_{\text{mistura}}$ para os efluentes testados.

Designação do efluente	$[CQOs]_{\text{mistura}}$ (g O ₂ /L)	ΔP_{max}^* (mbar)	$[CBO]_{96 \text{ horas}}$ (g O ₂ /L)	$([CBO]_{96 \text{ horas}} / [CQOs]_{\text{mistura}})$
1R1	1,01	160	1,23	–
2R1	2,42	256	1,96	0,81
3R1	4,99	239	1,99	0,40
1R3	0,09	87	0,67	–
2R3	0,07	79	0,61	–
borras	3,38	166	1,27	0,38

* valor de pressão máxima registado pelo sensor de pressão acoplado ao frasco de incubação.

No estudo de biodegradabilidade aeróbia realizado tanto o volume de amostra (50ml), como a concentração de biomassa utilizada (2,5 g SSV/L) foram iguais para todos os ensaios. Os valores da tabela 6.2 referentes a $[CBO]_{96 \text{ horas}}$ e a ΔP_{max} estão directamente relacionados com a $[CQOs]_{\text{mistura}}$ utilizada em cada ensaio. Para se poderem comparar os valores da razão $[CBO]_{96 \text{ horas}}/[CQOs]_{\text{mistura}}$ para os efluentes sujeitos ao pré-tratamento anaeróbio com o efluente das borras sem qualquer tratamento, teria que se garantir que a razão substrato/biomassa (S/X) utilizada seria óptima dada a elevada quantidade de biomassa adoptada nestes ensaios. Com os valores obtidos para a $[CBO]_{96 \text{ horas}}$ é possível concluir que apenas para os efluentes 2R1 e 3R1 essa comparação é possível. Para os restantes efluentes (1R1, 1R3 e 2R3) é visível pela análise da figura 6.3 e pelos valores da tabela 6.2 que a razão (S/X) utilizada não foi boa, devido a um défice no volume de substrato utilizado. Para estes ensaios esse défice é evidenciado pelos valores obtidos para a $[CBO]_{96 \text{ horas}}$, uma vez que estes são superiores aos valores da $[CQOs]_{\text{mistura}}$ utilizada no início dos ensaios. Este facto demonstra que tendo em conta as concentrações destes efluentes obtidos nas unidades experimentais, o volume de efluente (substrato) utilizado foi bastante reduzido, pelo que ocorreu nestes ensaios a hidrólise da biomassa. Os valores da razão $[CBO]_{96 \text{ horas}}/[CQOs]_{\text{mistura}}$ para os efluentes 2R1 e 3R1 em relação ao efluente das borras evidenciam que estes efluentes sujeitos ao pré-tratamento anaeróbio

apresentam valores mais elevados o que indicia a presença de compostos mais facilmente biodegradáveis.

Pela análise da figura 6.3 é visível que a curva que representa o efluente 3R1 na fase final do ensaio ainda se encontrava em crescimento, o que indica que para este caso o valor da razão $[CBO]_{96 \text{ horas}}/[CQOs]_{\text{mistura}} = 0,40$ se encontra aquém do valor real possível de atingir. Neste ensaio devido a $[CQOs]_{\text{mistura}}$ inicial ser relativamente alta comparando com os restantes efluentes e com o efluente das borras, pode-se concluir que em termos comparativos houve um défice na concentração de biomassa utilizada.

Pela análise da figura 6.3 e dos valores da $[CBO]_{96 \text{ horas}}$, conclui-se que o efluente 2R1 é o que apresenta a melhor relação (S/X), isto é, o tempo do ensaio (96 horas) e a quantidade da amostra (50 ml) escolhidos foram adequados para a quantidade de biomassa presente. No caso do efluente 3R1 deveria ter sido utilizado cerca de metade do volume de amostra, enquanto que para o efluente 1R1 deveria ter sido utilizado o dobro do volume. Os valores da razão $[CBO]_{96 \text{ horas}}/[CQOs]_{\text{mistura}}$ indicam que o efluente 2R1 sujeito ao pré-tratamento anaeróbio comparativamente ao efluente das borras apresentou uma melhoria de biodegradabilidade aeróbia de 113%, enquanto o efluente 3R1 apresenta uma melhoria de apenas de 5%, fundamentalmente devido às razões mencionadas anteriormente.

No que diz respeito aos efluentes provenientes da digestão anaeróbia completa (1R3 e 2R3) a quantidade de amostra a utilizar deveria ser a máxima possível de acordo com o volume total dos frascos utilizados nos ensaios, e possivelmente, ainda seria necessário diminuir a quantidade de biomassa a utilizar.

7. Conclusões e considerações gerais

Este trabalho focalizou-se em avaliar a possibilidade de aplicação de processos anaeróbios como pré-tratamento de um efluente dificilmente biodegradável gerado numa indústria alimentar. Os processos anaeróbios estudados foram: a acidificação anaeróbia e a digestão anaeróbia completa. O processo de acidificação anaeróbia teve como variáveis de estudo a carga orgânica aplicada e a temperatura operatória, enquanto na digestão anaeróbia completa a variável estudada foi a carga orgânica aplicada.

Como principais conclusões deste estudo destacam-se as seguintes:

- Em relação aos reactores acidogénicos, o reactor operado na gama mesofílica (36°C) apresenta um rendimento superior ao reactor termofílico (55°C), sendo o grau de acidificação superior em todas as cargas aplicadas.
- O reactor acidogénico na gama mesofílica teve uma boa resposta aos aumentos de carga orgânica, onde se obteve uma remoção de COQs entre 26 e 36% e um grau de acidificação entre 31 e 40% para cargas orgânicas aplicadas compreendidas entre 5 e 20 g CQOs/L.d e um TRH de 0,5 dias.
- O reactor acidogénico na gama termofílica evidenciou uma descida acentuada no grau de acidificação em cerca de 15%, quando se aplicou uma carga orgânica intermédia de 10 g CQOs/L.d. Este facto leva a supor que para cargas mais elevadas o processo de acidificação anaeróbia nesta gama de temperatura poderá estar comprometido.
- No que diz respeito aos ácidos orgânicos voláteis verifica-se que a temperatura condiciona a composição dos AOVs presentes no efluente acidificado, onde se verificou que a gama termofílica favorece a presença do ácido n-butírico, apresentando-se neste caso como o 2º AOV em maior quantidade em detrimento do ácido propiónico que é o 2º AOV mais

representado na gama mesofílica. Para além disso, o aumento de carga orgânica na gama mesofílica favorece o aparecimento de ácidos com maior peso molecular como o n-valérico, embora este seja o ácido presente em menor quantidade.

- Como alternativa para o processo de pré-tratamento o reactor metanogénico evidenciou uma boa resposta em termos de remoção de CQOs, obtendo-se eficiências de remoção entre 74 e 89%. O grau de metanização atingiu cerca de 11 a 42% do CQO consumido.
- Os testes de biodegradabilidade aeróbia aos efluentes obtidos nos processos de pré-tratamento indicam que a degradação biológica aeróbia do efluente borras é melhorada com a sua utilização devido à obtenção de substratos mais facilmente biodegradáveis.
- Para o ensaio de biodegradabilidade aeróbia do efluente com pré-tratamento acidogénico, verificou-se uma melhoria de 113% para o efluente 2R1 em relação ao efluente borras sem qualquer tratamento (a razão CBO/CQO passou de 0,38 para 0,81).
- A digestão anaeróbia completa também pode ser uma alternativa como pré-tratamento do efluente das borras dado se obter uma remoção elevada de CQOs (com a correspondente diminuição das necessidades de oxigénio no processo aeróbio complementar) e se obter ainda um efluente tratado com compostos facilmente biodegradáveis.

Sugestões para futuros trabalhos:

- Optimização das condições operatórias dos reactores laboratoriais nos estudos de acidificação anaeróbia e digestão anaeróbia completa.
- Realização de ensaios de biodegradabilidade aeróbia aos efluentes obtidos nas unidades laboratoriais de pré-tratamento de forma a avaliar quais as condições operatórias que maximizam a posterior biodegradabilidade aeróbia do efluente, tendo em conta a melhor razão substrato/biomassa a utilizar nos ensaios.

Referências Bibliográficas

Alvarez, R.S., Field, J., Lettinga, G. (1988). Toxicidad metanogenica de compuestos fenolicos y lipidicos. In: Actas del 4º Seminario D.A.A.R., F.Fdz. Polanco, P.A. Garcia e S. Hernando (Eds.), Univ. Valladolid, 170-189.

Alves, M.M., Mota, M.M., Novais, J.M. (1995). Técnicas de caracterização e estudo de digestores anaeróbios. Boletim de Biotecnologia, 52, 25-39.

Alves, M.M., Álvares Pereira, M.R., Mota Vieira, J.A., Mota, M. (1997 a). Effect of lipids on biomass development in anaerobic fixed film reactors treating a synthetic dairy waste. In: *Proc Int. Symp. Environ. Biotechnol. (ISEB)*, Verachtert, H. e Verstraete, W. (Eds.) Ostende, Bélgica, part II, 521-524.

Alves, M.M., Bellouti, M. Pereira, M.A., Álvares Pereira, M.R., Mota Vieira, J.A. Novais, J.M., Mota, M. (1998). A new method to study interactions between biomass and packing material in anaerobic fixed bed reactors. *Biotechnol. Tech.*, 12, 4, 277-283.

Andrews, J.F., Graef, S.P. (1971). Dynamic modeling and simulation of the anaerobic digestion process. *Adv. Chem. Ser.*, 105, 126-162.

Angelidaki, I., Ahring, B.K. (1995). Establishment and characterization of an anaerobic thermophilic enrichment culture degrading long-chain fatty acids. *Appl. Environ. Microbiol.*, 61,6, 2442-2445.

APHA, (1998). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 20th Edition, American Public Health Association, Water Environment Federation, American Water Works Association, Washington, USA.

Attal, A., Ehlinger, F., Audic, J.M., Faup, G.M. (1986). Anaerobic fermentation at low pH: glucose and intermediate product degradation kinetics. In Conference Papers of "Anaerobic Treatment a Grown- Up Technology", AQUATEC'86, Industrial Presentations B.V., Schiedam, 63-76.

Austermann-Haun, U., Seyfried, C.F., Zellner, G., Diekmann, H. (1994). Start-up of anaerobic fixed film reactors: Technical aspects. *Wat. Sci. Technol.*, 10-11, 297-308.

Baeza J. A., Gabriel D. and Lafuente J. (1999). An expert supervisory system for a pilot WWTP. *Environ. Modelling & Software*, 14, 383-390.

Balch, W.E., Fox, G.E., Magrum, L.J., Woese, C.R., Wolfe, R.S. (1979). Methanogens: reevaluation of a unic biological group, *Microbiol. Rev.*, 43, 260-269.

Barford, J.P. (1988). Start-up, dynamics and control of anaerobic digesters. In: Handbook of Anaerobic Fermentations, L.E. Erickson e D.Y.-C. Fung (Eds.), Marcel Dekker, New York, 803-833.

Barker, H.A. (1937). The production of caproic and butyric acid by the methane fermentation of ethyl alcohol. Arch. Microbiol., 8, 416-421.

Beal, L.L. (1995). Avaliação de processo anaeróbio em duas fases tratando efluente de curtume. Tese de Mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre.

Bonifácio, A.L.E., R.T. Costa, C.R.G. Tavares & R. Bergamasco (1998). Tratamento anaeróbio de efluentes líquidos em processo com separação física de fases. Anais da II reunião nacional de microbiologia aplicada ao meioambiente. Universidade Federal de Santa Catarina.

Boone, D.R., Bryant, M.P. (1980). Propionate degrading bacterium, syntrophobacter wolinii sp. nov. gen. nov., from methanogenic ecosystems. Appl. Environ. Microbiol., 40, 626-632.

Britz, T.J., Spangenberg, G. Venter, C.A. (1994). Acidogenic microbial species diversity in anaerobic treating different substrates. Wat. Sci. Technol., 30:12, 55-62.

Buswell, A.M., Neave, S.L. (1930). Laboratory studies of sludge digestion. *State Water Survey*, Bulletin nº 30, State of Illinois, Urbana, Illinois, USA.

Callender, I.J., Barford, J.P. (1983). Recent advances in anaerobic digestion technology. *Proc. Biochem.*, 18, 24-30.

Carrondo, M.J.T., Reis, M.A.M. (1987). Fixed Film Anaerobic Digestion in Global Bioconversions, CRC Press, 101-129.

Chen, S.J., Li, C.T., Shieh, W.K. (1988). Anaerobic fluidized bed treatment of an industrial wastewater. *J. Water Pollut. Control Fed.*, 60:10, 1826-1832.

Chernicharo, C.A.L. & R.M. Aroeira (1994). Metodologia para avaliação da alcalinidade em processos anaeróbios. *Biociência* 31-36.

Chernicharo, C.A.L. (1997a). Princípios do tratamento biológico de águas residuárias. Reatores anaeróbios. Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental. Universidade Federal de Minas Gerais. Volume 5. 246 pp.

Coates, JD, Coughlan, M.F., Collieran, E. (1996). Simple method for the measurement of the hydrogenotrophic methanogenic activity of anaerobic sludges. *J. Microbiol. Meth.*, 26, 237-246.

Collivignarelli, C. Urbini, G. Farneti, A. Bassetti, A., Barbaresi, U. (1991). Economical removal of organic and nutrient substances from municipal wastewaters with full-scale UASB fluidized and fixed-bed reactors. *Wat. Sci. Technol.*, 24:7, 89-95.

Collivignarelli, C. Urbini, G. Farneti, A. Bassetti, A., Barbaresi, U. (1990). Anaerobic-aerobic treatment of municipal wastewaters with full-scale upflow anaerobic sludge blanket and attached biofilm reactors. *Wat. Sci. Technol.*, 22:1/2, 475-482.

Dahab, M., Young, J.C. (1982). Retention and distribution of biological solids in fixed-bed anaerobic filters. In: *Proc. 1st Int. Conf. on Fixed-Film Biological Processes*, Kings Island, Ohio, 1337-1351.

Dawson, R.M.C., Kemp, P. (1970). Biohydrogenation of dietary fats in ruminants in physiology of digestion and metabolism in the ruminant Phillipson, A.T. (Eds), Oriel Press, Nescastle. England, 504.

Dolfing, J. (1988). Acetogenesis. In *Biology of Anaerobic Microorganisms*, Alexander J. B. Zenhder (Ed.), John Wiley & Sons, New York, 417-468.

Eastman, J.A., Ferguson, J.F. (1981). Solubilization of particulate organic carbon during the acid phase of anaerobic digestion. *J. Wat. Pollut. Control Fed.*, 53:3, 352-366.

Edeline, F. (1979). L'épuration biologique des eaux residuaire. Liège. Cebedoc. 299 pp.

Fang, H.H.P., Chui, H.K., Li, Y.Y. (1994). Microbial structure and activity of UASB-granules treating different wastewaters. *Wat. Sci. Technol.*, 30, 12, 87-96.

Fernández-Polanco, F., Diez, V. (1988). Reactores anaerobios de lecho fluidizado diseño y operacion. In: *Actas del 4º Seminario D.A.A.R.*, F.Fdz. Polanco, P.A. Garcia, S. Hernando (Eds.), Univ. Valladolid, 170-189.

Finnegan, S.M.T. (1994). Anaerobic digestion of sulphate-containing wastewater from citric acid production. *Ph.D. Thesis*, National University of Ireland.

Fontaine, F.E., Peterson, W.H., McCoy, E., Johnson, M.J., Ritter, G.J. (1942). A new type of glucose fermentation by *Clostridium thermoaceticum* n. sp. *J Bacteriol.*, 43, 701-715.

Forage, R.G., Harrison, D.E.F., Pitt, D.E. (1985). Effect of environment on microbial activity. In: *Comprehensive Biotechnology: The Principles, Applications and Regulamentations of Biotechnology in Industry, Agriculture and Medicine*. M. Moo-Young. (Ed) Pergamon Press, Oxford, UK, Vol 1, p 251-280.

Forster, C. (1994). Anaerobic digestion and industrial wastewater treatment. *Chemist. Indust.*, 6, 404-409.

Fukuzaki, S., Nishio, N., Shobayashi, M., Nagai, S. (1990). Inhibition of the fermentation of propionate to methane by hydrogen, acetate and propionate. *Appl. Environ. Microbiol.*, 56, 719-723.

Gerardi, M.H. (2003). *The microbiology of anaerobic digesters*, John Wiley & Sons, New Jersey, USA.

Goldberg, I., Cooney, C.L. (1981). Formation of short chain fatty acids from H₂ and CO₂ by a mixed culture of bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.*, 41, 148-154.

Gonçalves, I.M.C. (1988). Tratamento anaeróbio de efluentes líquidos. Trabalho de síntese com vista a apresentação de provas de capacidade científica. Universidade da Beira Interior, Departamento de Química, Covilhã.

Gujer, W., Zehnder, A.J.B. (1983). Conversion processes in anaerobic digestion, *Wat. Sci. Technol.*, 15, 127-167.

Grobicki, A., Stuckey, D.C. (1991). Performance of the anaerobic baffled reactor under steady-state and shock loading conditions. *Biotechnol. Bioeng.*, 37, 344-355.

Heijnen, J.J. Mulder, A. Enger, W., Hoeks, F. (1986). Review on the application of anaerobic fluidized bed reactors in waste-water treatment. In: *Conference Papers of "Anaerobic Treatment a Grown-Up Technology"*, AQUATEC'86, Industrial Presentations B.V., Schiedam, 159-174.

Henze, M., Harremões, P. (1983). Anaerobic treatment of wastewater in fixed film reactors – a literature review, *Wat. Sci. Technol.*, 15, 1-101.

Hickey, R.F., Switzenbaum, S.M. (1988). The role of intermediate and product gases as a regulators and indicators of anaerobic digestion. In: *Poster-Papers 5th Int. Symp. Anaerobic Digestion*, A.Tilche e A. Rozzi (Eds), Bolonha, Italy, 43-47.

Hickey, R.F., Vanderwielen, J., Switzenbaum, M.S. (1989). The effect of heavy metals on methane production and hydrogen and carbon monoxide levels during batch anaerobic sludge digestion. *Wat. Res.*, 23, 207-218.

Hickey, R.F., Wu, W.-M., Veiga, M.C., Jones, R. (1991). Start-up, operation, monitoring and control of high-rate anaerobic treatment systems. *Wat. Sci. Technol.*, 24:8, 207-255.

Hirata, Y. S. (1997). Parâmetros de controle de processo. In: *III Curso de Tratamento Biológico de Resíduos*. Universidade Federal de Santa Catarina.

Holst, T.C., Truc, A., Pujol, R (1997). Anaerobic fluidized beds: ten years of industrial experience. *Wat. Sci. Technol.*, 36, 6-7, 415-422, 1997.

Hwu, C.-S. (1997). Enhancing anaerobic treatment of wastewaters containing oleic acid. Ph.D. Thesis, Wageningen Agricultural University, Wageningen, The Netherlands.

Inanc, B., MATSUI, S., IDE, S. (1996). Propionic acid accumulation and controlling factors in anaerobic treatment of carbohydrate: effects of H₂ and pH. *Wat. Sci. Technol.*, 34, 317-325.

Iza, J., Colleran, E., París, J.M., Wu, W.-M. (1991). International workshop on anaerobic treatment technology for municipal and industrial wastewaters: summary paper. *Water Sci. Technol.*, 24:8, 1-16.

Jeris, J., E McCarty, P.L (1965). The biochemistry of methane fermentation using C¹⁴ tracers. *J. Wat Pollut. Control Fed.*, 37:2, 143-148.

Kato, M. (1994). The anaerobic treatment of low strength soluble wastewaters. Ph.D. Thesis, Wageningen Agricultural University, The Netherlands.

Katinka (1994). The role of homoacetogenic bacteria in anaerobic digestion. Internal Report, University College Galway Ireland.

Kidby, D.W. e Nedwell, D. B. (1991). An investigation into the suitability of biogas hydrogen concentration as a performance monitor for anaerobic sewage sludge digesters. *Wat. Res.*, 25, 1007-1012.

Laanbroek, H.J. Abee, T., Voogd, I.L. (1982). Alcohol conversions by *Dessulfobulbus propionicus* Lindhorst in the presence and absence of sulfate and hydrogen. *Arch. Microbiol.*, 133, 178-184.

Lau, I.W.C., Fang, H.H.P. (1997). Effect of temperature shocks to thermophilic granules. *Wat. Res.*, 31, 10, 2626- 2632.

Lawrence, A.A. (1971). Application of process kinetics to design of anaerobic processes. *Adv. Chem. Ser.*, 105, 163-189.

Lens, P.N., O'Flaherty, V., Dijkema, C., Colleran, E., Stams, A.J.M. (1996). Propionate degradation by mesophilic anaerobic sludge: degradation pathways and effects of other volatile fatty acids. *J. Ferm. Bioeng.*, 82:4, 387-391.

Lema, J., Méndez, R., Iza, J., Garcia, P., Fernández-Polanco, F. (1991). Chemical reactor engineering concepts in design and operation of anaerobic treatment processes, *Water Science. Technology*, 24 (8), 79-86.

Lettinga G., Van Velsen A. F. M., Hobma S. W., De Zeeuw W., Klapwijk A. (1980). Use of upflow sludge blanket (USB) reactor concept for biological wastewater treatment, especially for anaerobic treatment. *Biotechnol. Bioeng.* 22, 699-734.

Lettinga, G. (1995). Anaerobic digestion and wastewater treatment. *Antonie van Leeuwenhoek*, 67, 3-28.

Lettinga, G., Field, J., Van Lier, J.B., Zeeman, G., Hulshoff Pol, L.W. (1997 b). Advanced anaerobic wastewater treatment in the near future. *Wat Sci Technol.*, 35:10, 5-12.

Lin, C.-Y. (1992). Effect of heavy metals on volatile fatty acid degradation in anaerobic digestion. *Wat. Res.*, 26, 177-183.

Lusk, P. (1998). Methane recovery from animal manures – the current opportunities casebook, National Renewable Energy Laboratory, U.S. Department of Energy, Washington DC.

Mackie, R.I. E Bryant, M.P. (1981). Metabolic activity of fatty acid oxidising bacteria and the contribution of acetate, propionate, butyrate and CO to methanogenesis in cattle waste at 40 and 60 °C. *Appl. Environ. Microbiol.*, 41, 1363-1373.

Mah, R.A. E Sussman, C. (1968). Microbiology of anaerobic sludge fermentation. 1. Enumeration of the non-methanogenic anaerobic bacteria. *Applied Microbiol.*, 16, 358.

Makkonen, O.H.P. (1953). Sand filter for use with septic tank. In: Design and Operation of Septics Tanks, *WHO Monograph series*, nº 18, 107-109.

Marchaim, U. E Krause, C. (1993). Propionic to acetic acid ratios in overloaded anaerobic digestion. *Biores. Technol.*, 43, 195-203.

Marques, I.P.R. (1988). Estudo da aplicação do filtro anaeróbio à conversão do efluente suínico em biogás. *Provas para Assistente de Investigação*, DER, LNETI, Lisboa.

McCarty, P.L. (1964). Anaerobic waste treatment fundamentals. Part 3. *Public Works*, 91-94.

Monnet, F. (2003). An introduction to anaerobic digestion of organic wastes - Final Report, Remade, Scotland.

Mosey, F.E. (1983). Mathematical modelling of the anaerobic digestion process: regulatory mechanisms for the formation of short-chain volatile acids from glucose, *Wat. Sci. Technol.*, 15, 209-232.

Mosey, F.E., Fernandez, X.A. (1984). Mathematical modelling of methanogenesis in sewage sludge digestion. In: *Microbiological Methods for Environmental Biotechnology*, J.M. Graincher, J.M. Lynch (Eds.), Academic Press, New York 159-168.

Nachaiyasit, S., Stuckey, D.C. (1995). Microbial response to environmental changes in an anaerobic baffled reactor (ABR). *Antonie van Leeuwenhoek*, 67, 111-123.

Nähle, C. (1991). The contact process for the anaerobic treatment of wastewater: technology design and experiences. *Wat. Sci. Technol.*, 24:8, 179-191.

Nozhevnikova, A.N, Holliger, C., Ammann, A., Zehnder, A.J.B. (1997). Methanogenesis in sediments from deep lakes at different temperatures (2-70 °C). *Wat. Sci. Technol.*, 36:6-7, 57 -64.

Oktem Y. A., Ince O., Donnelly T., Sallis P., Ince B. K. (2006). Determination of optimum operating conditions of an acidification reactor treating a chemical synthesis-based pharmaceutical wastewater. *Process Biochemistry*, 41, p. 2258-2263.

Oleszkiewicz, J.A., Sharma, V.K. (1990). Stimulation and inhibition of anaerobic processes by heavy metals - a review. *Biol. Wastes.*, 31, 45-67.

Oremland, R.S. (1988). Biogeochemistry of methanogenic bacteria. In: *Biology of Anaerobic Microorganisms*, Alexander J.B. Zehnder (Ed.) John Wiley & Sons, New York, 641-705.

Paris, J.M., Lema, J.M., Casas, C. (1983). Criterios de selección de tecnología en la digestión anaeróbia de aguas residuales. *Ingeniería Química*, Octubre, 143-149.

Parkin, G.F., Owen, W.F. (1986). Fundamentals of anaerobic digestion of wastewater sludges, *J. Environ. Eng. Div. ASCE*, 112:5, 867-919.

Pereira, M.A.A.S. (2003). Anaerobic biodegradation of long chain fatty acids, Ph.D. Thesis, Departamento de Engenharia Biológica, Universidade do Minho, Portugal.

Pohland, F.G. (1992). Anaerobic treatment: fundamental concepts, applications, and new horizons. In: *Design of Anaerobic Processes for the Treatment of Industrial and Municipal Wastes*, J.F. Malina Jr. e F.G. Pohland (Eds.), Water Quality Management Library, Basel, Vol. 7, Cap. 1.

Reuschenbach P., Pagga U., Strotmann U. (2003). A critical comparasion of respirométrico biodegradation tests based on OECD 301 and related test methods. *Water Research*, 37, p. 1571-1582.

Reynolds, P.J. (1986). Support Matrix and Feed Flow Effects in Anaerobic Fixed Bed Reactors. PhD Thesis, University College, Galway, Ireland.

Rinzema, A. (1988). Anaerobic treatment of wastewater with high concentration of lipids or sulfate. Ph.D. Thesis, Wageningen Agricultural University, Wageningen, The Netherlands.

Sakharova, Z.V., Rabotnova, I.L. (1976). Effects of pH on physiological and biochemical properties of chemostatic culture of *Bacillus megaterium*. *Mikrobiologiya (Engl Transl)*, 46, 15 -21.

Särner, E. (1986). Influence and control of H₂S on full-scale plants and pilot plant experiments. In Conference Papers of "Anaerobic Treatment a Grown-Up Technology", AQUATEC'86, Industrial Presentations B.V., Schiedam, 189-204.

Scherer, P., Lippert, M., Wolff, G. (1983). Composition of the major elements and trace elements of 10 methanogenic bacteria determined by inductively coupled plasma emission spectrometry. *Biol. Trace Element Res.*, 5, 149-163.

Schink, B. (1988). Principles and limits of anaerobic degradation: environmental and technological aspects. In *Biology of Anaerobic Microorganisms*, Alexander J. B. Zehnder (Ed.), John Wiley & Sons, New York, 771-846.

Schink, B., Thauer, R.K. (1988). Energetics of syntrophic methane formation and the influence of aggregation. In: *Proc. Granular Anaerobic Sludge: Microbiology and Technology (GASMAT) Workshop*, G. Lettinga, A.J.B. Zehnder, J.T.C. Grotenhuis, L.W. Hulshoff Pol (Eds.), Puduc Wageningen, Wageningen, 5-17.

Soares (2008). Acidificação anaeróbia como pré-tratamento de um efluente da indústria alimentar, Departamento de Ambiente e Ordenamento, Universidade de Aveiro.

Song, K.H., Young, J.C. (1986). Media design factors for fixed-bed filters. *J. Water Pollut. Control Fed.*, 58:2, 115-121.

Soto, M., Méndez, R., Lema, J.M. (1992). Characterization and comparison of biomass from mesophilic and thermophilic fixed bed anaerobic digesters. *Wat. Sci. Technol.*, 25:7, 203-212.

Sousa, M., Azeredo, J., Feijó, J., Oliveira, R. (1997). Polymeric supports for the adhesion of a consortium of autotrophic nitrifying bacteria. *Biotechnol. Tech.*, 11, 10, 751-754.

Speece, R.E., McCarty, P.L. (1964). Nutrient requirements and biological solids accumulation in anaerobic digestion. *Adv. Wat. Pollut. Res.*, 2, 305-322.

Speece, R.E., Parkin, G.F. (1983). The response of methane bacteria to toxicity. In: *Proc. Third International Symposium on Anaerobic Digestion* Boston, Massachusetts, p 23-35.

Speece, R.E. (1996). Toxicity response. In: *Anaerobic Biotechnology For Industrial Wastewaters*, R.E. Speece (Ed.), Vanderbilt University, Archae Press, USA, 245-286.

Stams, A.J.M. (1994). Metabolic interactions between anaerobic bacteria in methanogenic environments. *Antonie van Leeuwenhoek*, 66, 271-294.

Switzenbaum, M.S., Jewell, W.J. (1980). Anaerobic attached-film expanded bed reactor treatment. *J. Water Pollut. Control Fed.*, 52:7, 1953-1965.

Thaveesri, J., Boucneau, G., Gernaey, K., Kaonga, B., Verstraete, W. (1994). Organic and ammonia nitrogen in relation to granular sludge growth. *Wat. Sci. Technol.*, 30, 12, 43-54.

Tholozan, J.L., Samain, E., Grivet, J.P., Moletta, R., Dubourguier, H.C., Albagnac, G. (1988). Reductive carboxylation of propionate to butyrate in methanogenic ecosystems. *Appl. Environ. Microbiol.*, 54, 441-445.

Valentini, A., Garuti, G., Rozzi, A., Tilche, A. (1997). Anaerobic degradation kinetics of particulate organic matter: a new approach. *Wat. Sci. Technol.*, 36, 6-7, 239-246.

Van Den Berg, L., Lentz, C.P. (1979). Comparison between up and downflow anaerobic fixed-film reactor of various surface-to-volume ratios for the treatment of bean blanching waste. In: *Proc. of 34th Purdue Industrial Waste Conference*, Ann Arbor Science Publishers Inc, 319-325.

Van Haandel, A.C. & G. Lettinga (1994). Tratamento anaeróbio de esgotos. Epgraf. Campina Grande.

Van Lier, J.B., Boersma, F., Debets, M.M.W.H., Lettinga, G. (1994). High rate thermophilic anaerobic wastewater treatment in compartmentalized upflow reactors. *Wat. Sci. Technol.*, 30, 251-261.

Van Lier, J.B., Rebac, S., Lens, P., Van Bijnen, F., Stefanie, J.W., Elferink, H.O., Stams, A.J.M., Lettinga, G. (1997). Anaerobic Treatment of partly acidified wastewater in a two-stage expanded granular sludge bed (EGSB) system at 8 °C. *Wat. Sci. Technol.*, 36, 6-7, 317-324.

Viraraghavan, T., Kikkeri, S.R. (1990). Effect of temperature on anaerobic filter treatment of dairy wastewater. *Wat. Sci. Technol.*, 22:9, 191-198.

Weiland, P., Rozzi, A. (1991). Start-up, operation, monitoring and control of high-rate anaerobic treatment systems: Discussor's Report. *Water Sci. Technol.*, 24, 8, 257-277.

Winkler, M. A. (1981). Biological treatment of wastewater. West Sussex. Ellis Horwood Ltd. England.

Woese, C.R., Kandler, O., Wheelis, M.L. (1990). Towards a natural system of organisms: proposal for the domains Archea, Bacteria and Eucarya. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 87, 4576-4579.

Wolfe, R.S. (1992). Biochemistry of methanogenesis. In: *The Archaeobacteria: Biochemistry and Biotechnology*, Biochem. Soc. Symp, nº 58, 41-49.

Young, J.C., McCarty, P.L. (1967). The anaerobic filter for waste treatment. In: *Proc 22nd. Ind. Waste Conf.*, Purdue University, 559-575.

Young, J.C., Yang, B.S. (1989). Design considerations for full-scale anaerobic filters. *J. Wat. Pollut. Control Fed.*, 61:9, 1576-1587.

Young, J.C. (1991). Factors affecting the design and performance of upflow anaerobic filters. *Water Sci. Technol.*, 24:8, 133-155.

Zehnder, A.J.B., Stumm, W. (1988). Geochemistry and biogeochemistry of anaerobic bacteria. In *Biology of Anaerobic Microorganisms*, Alexander J. B. Zehnder (Ed.), John Wiley & Sons, New York, 1-38.

Zeikus, J.G. (1980). Microbial populations in digesters. In: *Anaerobic Digestion*. D.A. Stafford, B.I. Wheatley and D.E. Hughes (eds.), Applied Science Publishers, London, 61-89.

Zinder, S.H. (1988). Conversion of acetic acid to methane by thermophiles. In *Proc. 5th Int. Symp. Anaerobic Digestion*, E.R. Hall and P.N. Hobson (Eds), Pergamon Press, New York, 1-12.